



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 696 32 481 T3 2008.11.27

## (12) Übersetzung der geänderten europäischen Patentschrift

(97) EP 0 871 451 B2

(21) Deutsches Aktenzeichen: 696 32 481.4

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/FI96/00465

(96) Europäisches Aktenzeichen: 96 928 481.9

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 1998/006405

(86) PCT-Anmeldetag: 02.09.1996

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 19.02.1998

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 21.10.1998

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: 12.05.2004

(97) Veröffentlichungstag  
des geänderten Patents beim EPA: 09.07.2008

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 27.11.2008

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: A61K 31/575 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

### Patentschrift wurde im Einspruchsverfahren geändert

(30) Unionspriorität:

963126 09.08.1996 FI

(73) Patentinhaber:

Raisio Benecol Ltd., Raisio, FI

(74) Vertreter:

Flaccus, R., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Anw.,  
50389 Wesseling

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,  
LU, MC, NL, PT, SE

(72) Erfinder:

WESTER, Ingmar, FIN-21260 Raisio, FI; PALMU,  
Tapiro, FIN-21260 Raisio, FI; MIETTINEN, Tatu,  
FIN-02100 Espoo, FI; GYLING, Helena, FIN-00650  
Helsinki, FI

(54) Bezeichnung: Zusammensetzung enthaltend pflanzliche Stanol-Ester und ihre Verwendung zur Senkung des Cholesterin-Spiegels

**Beschreibung****Erfindungsgebiet**

**[0001]** Die vorliegende Erfahrung betrifft eine Zusammensetzung von Pflanzenstanolen in veresterter Form, die einen Sitostanolfettsäureester enthalten, insbesondere zur Verwendung als Mittel zur Absenkung des Serumcholesterinspiegels. Eine derartige Zusammensetzung kann vorteilhafter Weise in Speiseölen und -fetten und in fetthaltigen Nahrungsmitteln verwendet werden.

**Hintergrund der Erfahrung**

**[0002]** Pflanzensterole sind wesentliche Bestandteile aller Pflanzen. Ihre Funktionen bei Pflanzen ähneln den Funktionen von Cholesterin bei Säugetieren. Die am häufigsten vorkommenden Pflanzensterole in der Flora sind  $\beta$ -Sitosterol, Campesterol und Stigmasterol. Die chemische Struktur dieser Pflanzensterole ist der von Cholesterin sehr ähnlich, wobei die Unterschiede in der Seitenkette der Hauptkette des Moleküls liegen. Im Vergleich zu Cholesterin weist die Seitenkette von Sitosterol beispielsweise eine zusätzliche Ethylgruppe auf und die Seitenkette von Campesterol eine zusätzliche Methylgruppe.

**[0003]** Seit den 50er Jahren ist bekannt, dass Pflanzensterole den Serumcholesterinspiegel wirksam senken. Auch bei Verabreichung in nur relativ kleinen Mengen (einige Gramm pro Tag) verringern sie wirksam die Absorbierbarkeit von biliärem Cholesterin und Nahrungscholesterin und senken so den gesamten Serum- und den LDL-Cholesterinspiegel (12, 28, siehe auch 27, 32). Der Mechanismus, durch den die Cholesterinabsorption eingeschränkt wird, ist noch immer nicht im einzelnen bekannt, es wird jedoch angenommen, dass Pflanzensterole Cholesterin aus der micellaren Phase verdrängen und so dessen Absorption verhindern. In praktisch allen frühen Studien konzentrierte sich das Interesse an Pflanzensterolen hauptsächlich auf Sitosterol oder dessen hydrierte Form Sitostanol. Die Sterolzusammensetzung der getesteten Zubereitungen wurde jedoch nicht immer gut dokumentiert und die Sterolzubereitungen, die in den meisten Studien verwendet wurden, enthielten ebenfalls unterschiedliche Mengen anderer Sterole.

**[0004]** Pflanzensterole wurden als sicheres Mittel zur Senkung des Serumcholesterinspiegels angesehen, da sie natürliche Bestandteile von pflanzlichen Fetten und Ölen sind. Außerdem ist ihre Absorption aus dem Darm gesunder Versuchsobjekte begrenzt und die begrenzten Mengen, die absorbiert werden, werden in der Galle aus dem Körper ausgeschieden. Die Absorptionsrate der Pflanzensterole variiert bei einzelnen Personen und bei den verschiedenen Pflanzensterolen, doch bei gesunden Menschen werden gewöhnlich weniger als 5% der Pflanzensterole aus dem Verdauungstrakt absorbiert (27). Es wurde jedoch auch gezeigt, dass bis zu 10% Nahrungscampesterol absorbiert wurden (20).

**[0005]** Bei einigen seltenen Krankheiten wie Sitosterolämie werden Pflanzensterole außergewöhnlich wirksam absorbiert und auch die Ausscheidung aus dem Körper auf biliärem Wege ist beeinträchtigt. Der Serumspiegel von Sitosterol, Campesterol und auch deren gesättigter Formen Sitostanol und Campestanol ist stark erhöht. Der erhöhte Spiegel an gesättigten Stanolen ist höchstwahrscheinlich eher auf deren wirksamere endogene Synthese als auf eine wirksamere Absorption zurückzuführen (10, 27). Ohne Behandlung führt Sitosterolämie schon in jungen Jahren zu Xanthomatosis und Koronarherzkrankheiten. Bei Menschen mit dieser Erkrankung kann eine Verabreichung von ungesättigten Pflanzensterolen in größeren Mengen als den normalerweise in der Nahrung vorliegenden zu gefährlichen gesundheitlichen Auswirkungen führen.

**[0006]** Lees und Lees (25) haben die Wirkungen von drei verschiedenen Sitosterolzubereitungen auf Plasmalipid- und -lipoproteinkonzentrationen getestet. Eine der Zubereitungen war Cytellin, eine handelsübliche Zubereitung (Eli Lilly Co., USA), die 60–65% Sitosterol und 35–40% andere Sterole, hauptsächlich Campesterol, enthielt. Eine durchschnittliche Dosis von 18 g/Tag, auf drei Verabreichungen verteilt, führte zu einer durchschnittlichen Senkung des gesamten Plasmacholesterins um 10,5% und des LDL-Cholesterins um 15%. Wenn normalerweise nur Spuren von Pflanzensterolen einschließlich Campesterol im Plasma gefunden werden (10, 33), so schwankte die Konzentration der Campesterole im Plasma zwischen 4 bis 21 mg/dl bei den von Lees und Lees getesteten Versuchsobjekten (25). In der Erörterung betonten die Autoren deutlich, dass, da die atherogene Wirkung von Campesterol nicht bekannt ist, die Verwendung einer Sitosterolzubereitung mit relativ hoher Campesterolgehalt wie der in ihrer Studie verwendeten Cytellin-Zubereitung nicht empfohlen werden kann.

**[0007]** Lees et al. (26) untersuchten außerdem die Wirksamkeit von Pflanzensterolen aus Sojaöl und Tallöl zur Absenkung des Cholesterinspiegels im Blut. Es wurden zwei verschiedene physische Formen eines jeden

Pflanzensterols verwendet, nämlich eine Suspension und ein Pulver. Das Sojasterol bestand zu 60–65% aus Sitosterol und zu 35% aus Campesterol und es wurde eine tägliche Dosis von durchschnittlich 18 g Sterole pro Tag (Bereich 9–24 g) in drei gleichen Dosen verabreicht. In dieser Studie wurde eine Tallölsterolzubereitung mit nur etwa 5% Campesterol verwendet. Eine tägliche Dosis von 3 Gramm beider Tallölsterolzubereitungen (Pulver und Suspension) wurde getestet. Außerdem wurden eine Dosis von 6 Gramm Tallölsterolsuspension getestet.

**[0008]** Sojasterol in beiden physischen Formen und Tallölsterol in Pulverform senkte den Cholesteringehalt im Plasma um durchschnittlich 12% (26). In dieser Studie wurde jedoch auch die relativ hohe Absorbierbarkeit von Campesterol beobachtet, die schon zuvor gezeigt wurde. Bei den 5 getesteten Patienten lag der Campesterolgehalt im Plasma zwischen 5 und 21 mg/dl (Mittel 16 mg/dl). Auch wenn die cholesterinsenkende Wirkung von Sojasterol sich als wesentlich erwies, empfahlen die Autoren dessen Verwendung als cholesterinsenkendes Mittel auch hier nicht. Sie empfahlen im Gegenteil, dass pharmazeutische Pflanzensterolzubereitungen ein Minimum an Campesterol und ein Maximum an Sitosterol enthalten sollten. Die beiden oben genannten Studien lassen den Schluss zu, dass die Verwendung von Sterolen auf Basis von Pflanzenöl wie Sojasterol nicht im geringsten empfehlenswert ist.

**[0009]** Gesättigte Pflanzensterole wie Sitostanol und Campestanol liegen in den meisten Pflanzenölen lediglich in Spuren vor. Tallölsterole enthalten jedoch 10–15% Sitostanol, der gesättigten Form von Sitosterol. Sitostanol kann ebenfalls durch Hydrierung der Doppelbindung in Sitosterol hergestellt werden. In den jüngsten Studien, die mit Tieren und Menschen als Versuchsobjekten durchgeführt wurden, hat sich gezeigt, dass Sitostanol als cholesterinsenkendes Mittel bessere Wirkung zeigt als Sitosterol (8, 16, 17, 18, 19, 36).

**[0010]** Ein weiterer Vorteil von Sitostanol ist, dass es faktisch nicht absorbierbar ist. Mehrere Studien (z. B. 9, 16, 17, 21) haben gezeigt, dass Sitostanol praktisch nicht absorbierbar ist, während kleine Mengen (< 5%) seiner ungesättigten Form Sitosterol (33) absorbiert werden können. In ähnlicher Weise zeigten Armstrong und Carey (6) in einer In-Vitro-Studie, dass Cholestanol, eine gesättigte Form des Cholesterins, stärker hydrophob und schlechter absorbierbar war als Cholesterin.

**[0011]** Wenn Sitostanol durch Hydrierung der gebräuchlichsten Pflanzensteroioquellen hergestellt wird, wird ein weiteres gesättigtes Pflanzensterol, nämlich Campestanol, aus Campesterol gebildet. Bis vor kurzem war wenig über die Absorbierbarkeit und die mögliche hypocholesterinämische Wirkung dieses Stanols bekannt. Auf Basis der oben genannten Daten, die belegen, dass gesättigte Sterole schlechter absorbiert werden als deren ungesättigte Formen, könnte man annehmen, dass Campestanol faktisch nicht absorbierbar ist.

**[0012]** Zur Untersuchung der Absorbierbarkeit verschiedener Pflanzensterole haben Heinemann et al. (20) die intestinale Absorption von Cholesterin mit Campesterol, Sitosterol, Stigmastanol und auch mit geringen Konzentrationen von Sitostanol und Campestanol bei Menschen mittels eines intestinalen Perfusionsverfahrens verglichen. Die Ergebnisse zeigten, dass die Absorptionsrate der verschiedenen Pflanzensterole bei den verschiedenen Pflanzensterolen unterschiedlich war, wobei diese im Durchschnitt für Sitosterol 4,2%, für Stigmastanol 4,8%, für Campesterol 9,6% und für Campestanol 12,5% betrug. Es wurden große Unterschiede bei der Absorptionseffizienz bei den zehn männlichen Versuchspersonen festgestellt.

**[0013]** So zeigte sich gemäß Heinemann et al. (20), dass Campestanol wirksamer absorbiert wurde als seine ungesättigte Form Campesterol. Dies steht der Annahme auf der Grundlage zuvor genannter Studien entgegen, die zeigten, dass die gesättigten Sterole (Sitostanol, Cholestanol) schlechter absorbierbar wären als die ungesättigten (Sitosterol, Cholesterin). Der Grund hierfür wurde bisher nicht geklärt. Heinemann et al. (20) vermuteten jedoch, dass der Grund für dieses widersprüchliche Ergebnis darin liegt, dass die Studie von Armstrong und Carey (6) unter In-Vitro-Bedingungen durchgeführt wurde und dass die Theorie, der zufolge die Hydrophobie ein wichtiger Faktor in der micellaren Bindung und/oder Absorption ist, unter In-Vivo-Bedingungen nicht von Bedeutung ist. Diese Vermutung erklärt jedoch nicht die Tatsache, dass mehrere Studien, die die geringere Absorbierbarkeit von Sitostanol im Vergleich zu der von Sitosterol zeigten, unter In-Vivo-Bedingungen durchgeführt wurden. So wurde von den Autoren keine Erklärung für die Ergebnisse von Heinemann et al. (20), die im Widerspruch zu früheren Ergebnissen stehen, gegeben.

**[0014]** Sugano et al. (34) untersuchten die hypocholesterinämische Wirkung von Maissterolen (Zusammensetzung: 31% Campesterol, 4% Stigmastanol und 65% Sitosterol) und Maisstanolen (Zusammensetzung: 31% Campestanol und 69% Sitostanol), die durch Hydrierung eines Maisölsterolgemisches hergestellt wurden. Zwei Versuche wurden an Ratten durchgeführt. Sowohl Sterol als auch Stanol zeigten hypocholesterinämische Wirkung bei einem Anteil von 0,5–1% der Nahrung, wenn Cholesterin (1% der Nahrung) aufgenommen wurde.

Beim ersten Versuch wurde kein wesentlicher Unterschied in der hypocholesterinämischen Wirkung von Pflanzensterolen und Pflanzenstanolen festgestellt. Beim zweiten Versuch zeigten jedoch bei gleichem Nahrungsanteil die Pflanzenstanole deutlich bessere Wirkung bei der Senkung der Cholesterinkonzentration im Plasma als die Pflanzensterole (statistisch signifikant bei  $p < 0,02$ ). Außerdem war bei Ratten, denen die 1,0%-Stanol-Diät gefüttert wurde, der Cholesterinspiegel im Plasma deutlich niedriger ( $p < 0,02$ ) als bei den Tieren, denen die cholesterinfreie Diät gefüttert wurde. Bei Ratten, denen die 1,0%-Sterol-Diät gefüttert wurde, wurde dies nicht beobachtet.

**[0015]** Sugano et al. (34) haben nicht den Unterschied in der hypocholesterinämischen Wirkung von Stanolgemischen mit hohem Sitostanolgehalt und niedrigem Campestanolgehalt (auf Basis von Tallölsterol) und Stanolgemischen mit einem wesentlich höheren Campestanolgehalt (auf Basis von Pflanzenölsterol) untersucht. Verglichen wurde die hypocholesterinämische Wirkung eines ungesättigten Sterolgemischs mit der des entsprechenden gesättigten Stanolgemischs. Spätere Studien dieser Forschungsgruppe konzentrierten sich auf die spezifische cholesterinsenkende Wirkung von Sitostanol und im Vergleich zu Sitosterol (21, 22, 23, 35). Tatsächlich wird in einer späteren Veröffentlichung (23) auf die oben erwähnte Pflanzenstanolstudie (34) verwiesen, wobei nur die hypocholesterinämische Wirkung von  $\beta$ -Sitostanol im Vergleich zu  $\beta$ -Sitosterol erwähnt wird, ohne dass eine hypocholesterinämische Wirkung von gesättigten Sterolen (einschließlich Campestanol) im Vergleich zu ungesättigten Sterolen erörtert wird. In den oben genannten späteren Studien wurden Sterolgemische mit der typischen Zusammensetzung aus hydrierten Tallölsterolen mit hohem Sitostanolgehalt (> 90%) verwendet.

**[0016]** Miettinen und Vanhanen (30) haben gezeigt, dass Sitostanol in der Fettsäureesterform bessere Wirkung zeigt als freies Sitostanol bei der Senkung des Serumcholesterinspiegels. Spätere Studien haben auch gezeigt, dass die Verwendung von Sitostanoestern als Teil der täglichen Diät ein wirksames Mittel zur Senkung der gesamten Serum- und LDL-Cholesterinkonzentrationen ist (13, 14, 15, 31, 37, 38). Der Vorteil der Verwendung von Stanoestern anstelle von freiem Stanol liegt auch darin, dass die Stanoester fettlöslich sind und daher leicht in viele verschiedene Nahrungsmittel eingearbeitet werden können, ohne den Geschmack, das Aroma oder das physikalische Verhalten des Endprodukts zu verändern. Das Verfahren zur Herstellung von Sitostanolfettsäureestern und die Verwendung von fettlöslichen Stanoestern in Nahrungsmitteln ist in US-Patent Nr. 5,502,045 (2) beschrieben.

**[0017]** Straub (3) schlägt die Verwendung von gesättigten Stanolen (Sitostanol, Clionastanol, 22,23-Dihydrobrassicastanol, Campestanol und Mischungen davon) vor für ein Verfahren zur Herstellung einer Nahrungsmittelzusatzzusammensetzung, bei dem Stanole mit einem essbaren Löslichkeitsverbesserer, einer wirksamen Menge eines geeigneten Antioxidationsmittels und einer wirksamen Menge eines geeigneten Dispergiermittels gemischt werden. Diese Nahrungsmittelzusätze sollen die Cholesterinabsorption aus cholesterinhaltigen Nahrungsmitteln und Getränken wie z. B. Fleisch, Eiern und Milchprodukten verringern. In diesem Patent werden jedoch keine Daten vorgelegt, die eine klinische Wirkung oder die Absorption von Nahrungssterolen belegen.

**[0018]** Eugster et al. (1) lehren die Verwendung geringer Mengen Sterole, ihrer Fettsäureester und Glucoside zur Behandlung von Tumoren. Die von Eugster et al. vorgeschlagenen Herstellungsfahren beinhalten gefährliche chemische Stoffe wie N,N'-Carbonyldimidazol, Thionylchlorid und Lösungsmittel wie Tetrahydrofuran, Benzol, Chloroform oder Dimethylformamid. Eugster et al. äußern sich zwar zur möglichen Verwendung dieser Stoffe als Nahrungsmittel und als Nahrungsmittelzusätze, legen jedoch keine Daten zur hypocholesterinämischen Wirkung vor oder beanspruchen eine solche Verwendung. Es ist schwierig, aus der Offenbarung von Eugster et al. einen deutlichen Eindruck zu gewinnen, wie das Endprodukt gereinigt wird, um einen ausreichend reinen Sterolester in ausreichend großen Mengen für die Verwendung als Nahrungsbestandteil zu erhalten. Die einzigen Reinigungsverfahren, auf die verwiesen wird, sind Dünnschichtchromatographie und Hochleistungsflüssigchromatographie. Aus diesem Grunde ist das Herstellungsverfahren, auf das Eugster et al. in der Patentschrift verweisen, auf kleine Mengen beschränkt.

**[0019]** Das US-Patent 3,751,569 (4) beschreibt die Zugabe von Pflanzensterolfettsäureestern zu Kochöl mit dem Ziel, den Serumcholesterinspiegel beim Menschen zu senken. Das Patent schlägt ein Verfahren zur Verwendung in der Veresterung von freien Sterolen vor, das keinesfalls die Anforderungen zur Herstellung eines nahrungsmittelgeeigneten Produktes erfüllt. Dem Patent zufolge wird die Veresterung zwischen einem freien Sterol und einem Fettsäureanhydrid durchgeführt, wobei Perchlorsäure als Katalysator eingesetzt wird. Der verwendete Katalysator und der verwendete Stoff sind für Nahrungsmittelverfahren nicht akzeptabel. Außerdem betrifft das Patent nur die Fettsäureester von nativen Pflanzensterolen. Das im deutschen Patent DE 22 48 921 (5) vorgeschlagene Verfahren für die Veresterung von in Ölen und Fetten vorliegenden Sterolen durch

ein chemisches Umesterungsverfahren erfüllt die Kriterien für Nahrungsmittelverfahren. Bei diesem Patent werden freies Sterol und ein Überschuss an Fettsäureestern zu einer Öl- oder Fettmischung gegeben, woraufhin das gesamte Fettgemisch durch ein allgemein bekanntes Umesterungsverfahren umgeestert wird. In dem daraus resultierenden Fettgemisch sind praktisch alle freien Sterole zu Fettsäureestern umgewandelt. Dies dient dem Zweck, freie Sterole in pflanzlichen oder tierischen Ölen vor möglichen Veränderungen während der Verarbeitung zu schützen.

**[0020]** Frühere Daten zeigen, dass Campesterol, eines der wichtigsten Pflanzensterole, relativ wirksam absorbiert wird. Daher wurde empfohlen, nur Pflanzensterolmischungen mit einem Minimumgehalt an Campesterol zur verwenden. Dies hat in der Praxis dazu geführt, dass Sterolmischungen wie Tallölsterole mit hohem Sitosterolgehalt verwendet werden.

**[0021]** Die meisten Arbeiten zu Stanolen beschäftigen sich nur mit Sitostanol. Die Studie von Heinemann et al. (20), die zeigt, dass Campestanol, die gesättigte Form von Campesterol, schneller absorbiert wird als Campesterol oder Sitosterol (12,5%, 9,6% bzw. 4,2%), hat zu einem „Konsens“ geführt, dass gesättigte Sterolmischungen mit „erhöhtem“ Campestanolgehalt aufgrund der Campestanolabsorption gefährlich sind. Ein klarer Beweis hierfür ist, dass alle klinischen Studien zur Verwendung von Stanolen (Sitostanol) auf Basis von Sterolmischungen mit hohem Gehalt an Sitostanol und niedrigem Gehalt an Campestanol durchgeführt wurden.

**[0022]** Viele Studien (z. B. 8, 17, 18, 19, 23, 36) belegen die Tatsache, dass Sitostanol, die gesättigte Form von Sitosterol, in der Senkung des Cholesterinspiegels im Blut wirksamer ist als das entsprechende ungesättigte Sitosterol. Außerdem werden gesättigte Sterole in sehr beschränkten Mengen absorbiert, wodurch die Verwendung von gesättigten Sterolen zu einem sicheren Mittel zur Absenkung des Cholesterins auf einer Populations-Basis wird. Unter den ungesättigten Sterinen wird insbesondere Campesterol in so großen Mengen absorbiert, dass man sich deutlich gegen die Verwendung von Sterolmischungen mit erhöhtem Campesterolgehalt (z. B. Sterolmischungen auf Basis von Pflanzenöl) aussprechen sollte (25, 26).

**[0023]** Entsprechend besteht ein starkes Vorurteil gegen die Verwendung von Campestanol in wesentlichen Mengen als Nahrungszusatz und dies hat die gesamte Bandbreite der Pflanzensterol enthaltenden Ausgangsstoffe ernstlich auf die beschränkt, die eine relativ geringe Menge an Campesterol und seiner gesättigten Form Campestanol enthalten.

#### Kurze Beschreibung der Erfindung

**[0024]** Die Erfindung betrifft Pflanzenstanolzusammensetzungen, die Sitostanol als einen Hauptbestandteil enthalten, aber mit wesentlichen Mengen Campestanol, verestert zu Fettsäureestern, und die der Absenkung des Serumcholesterinspiegels im Blut dienen.

**[0025]** Diese Stanolfettsäureesterzusammensetzungen, die Sitostanolfettsäureester als Hauptbestandteil enthalten, aber mit wesentlichen Mengen Campestanolfettsäureester, können in essbaren Produkten als Nahrungsbestandteil zur Senkung des Serumcholesterinspiegels im Blut verwendet werden.

**[0026]** Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist es, das Spektrum der Pflanzenrohstoffe zu erweitern, die für die Herstellung von Stoffen für essbare Produkte, insbesondere Speiseöle und -fette und fetthaltige Nahrungsmittel, geeignet sind, welche den Cholesterinspiegel im Blutserum regulieren sollen. Die Erfindung ermöglicht die Verwendung von Pflanzenölen und -fetten, die außer Sitosterol auch eine wesentliche Menge Campesterol enthalten, als Ausgangsstoffe für diese Zwecke.

**[0027]** Geeignete Ausgangsstoffe zur Verwendung in der Herstellung der Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung sind z. B. Mais, Soja und Raps, aber auch andere Pflanzen mit einer Pflanzensterolzusammensetzung mit hohem Campesterolgehalt können verwendet werden.

**[0028]** Die neuartige Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung kann in Nahrungsmitteln eingearbeitet werden wie Kochöle, Margarine, Butter, Mayonnaise, Salatdressings, Backfett, Käse (sowohl gereifte als auch ungereifte Käsesorten) und andere fetthaltige Nahrungsmittel.

**[0029]** Die Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung kann ebenfalls als solche verzehrt werden.

## Detaillierte Beschreibung der Erfindung

**[0030]** Die charakteristischen Merkmale der vorliegenden Erfindung sind in den beigefügten Ansprüchen dargelegt.

**[0031]** Gemäß der vorliegenden Erfindung enthält die Pflanzenstanolfettsäureesterzusammensetzung zusätzlich zu ihrem Hauptbestandteil Sitostanolfettsäureester, auch eine wesentliche Menge von mindestens 20% Campestanolfettsäureester.

**[0032]** Die Zusammensetzung enthält vorzugsweise 20–40% und weiter bevorzugt 25–35%, z. B. etwa 30%, Campestanolfettsäureester. Die Zusammensetzung wurde verestert, um diese lipophil zu machen.

**[0033]** In der gesamten Beschreibung werden alle Prozentangaben in Gewichtsprozent angegeben, wenn dies nicht anderweitig spezifiziert ist. In der vorliegenden Beschreibung beziehen sich die Zahlen in Klammern auf Veröffentlichungen, die in dem angefügten Literaturverzeichnis aufgeführt sind.

**[0034]** Daten, die überraschenderweise und entgegen dem herrschenden Vorurteil erhalten wurden, zeigen, dass eine hydrierte Stanolfettsäureestermischung, die Sitostanolfettsäureester als Hauptbestandteil, aber mit wesentlichen Mengen Campestanolfettsäureester, enthält, mindestens so wirksam ist wie eine Stanolfettsäureestermischung, die mehr als 90% Sitostanolfettsäureester enthält und einen geringen Campestanolfettsäureestergehalt hat, wodurch gezeigt wird, dass Campestanol bei der Verringerung der Cholesterinabsorption mindestens so wirksam ist wie Sitostanol. Außerdem zeigen die Daten aus der Sterolanalyse von Blutserum deutlich, dass Campestanol praktisch nicht absorbiert wird, wobei der Gehalt im Blutserum etwa 40% geringer ist als der des Sitostanols. So muss eine Stanolfettsäureestermischung, die Sitostanolfettsäureester als Hauptbestandteil enthält, aber mit wesentlichen Mengen Campestanolfettsäureester, als ebenso ungefährlich angesehen werden wie eine herkömmliche Stanolfettsäureestermischung auf Basis von Tallsterol. Diese Daten stehen in starkem Kontrast zur herrschenden Meinung bezüglich der Wirksamkeit und Ungefährlichkeit von Stanolmischungen mit erhöhtem Campestanolgehalt (siehe 20, 27, 34).

**[0035]** US-Patent 5,502,045 (2) zeigt, dass Sitostanolfettsäureester bessere Wirkung bei der Senkung des Cholesterinspiegels im Blut zeigen als freies Sitostanol. Spätere Studien haben die cholesterinsenkende Wirkung einer Margarine, die fettlösliche Sitostanolfettsäureester enthielt (z. B. 31), deutlich bestätigt.

**[0036]** Die Verwendung von Stanolfettsäureestern anstelle von freien Stanolen ist entscheidend für deren breit gefächerte Verwendung in verschiedenen fetthaltigen Nahrungsmitteln, da nur die Stanolfettsäureester in Speiseölen und -fetten in solchen Mengen löslich sind, dass der Gehalt ausreicht, um die Absorption sowohl von Nahrungscholesterin als auch biliärem Cholesterin aus dem Verdauungstrakt zu reduzieren.

**[0037]** Die Löslichkeit von Stanolestern in Speiseölen und -fetten liegt bei bis zu 35–40%, wohingegen die Löslichkeit von freien Sterolen in Speisölen und -fetten auf lediglich höchstens 2 Gew.-% bei einer Temperatur von 21°C (24) beschränkt ist. Größere Mengen könnten unter Verwendung verschiedener oberflächenaktiver Stoffe, Lösungsvermittler oder Dispergiermittel eingearbeitet werden, aber auch die Verwendung dieser Stoffe gewährleistet nicht die Fettlöslichkeit. Die Verwendung der oben genannten Stoffe ist üblicher Weise gesetzlich eingeschränkt oder untersagt. Außerdem beeinträchtigt ein Gehalt an freien Sterolen von 1% die physikalischen Eigenschaften des Fetts oder Öls, dadurch, dass sie eine Veränderung der Struktur und des physikalischen Verhaltens des Produkts verursacht. Dies ist bei der Verwendung von Stanolfettsäureestern nicht der Fall, da die physikalischen Eigenschaften des Fettgemisches einfach durch Abänderung der Fettsäurezusammensetzung des Gemisches verändert werden können.

**[0038]** Es ist offensichtlich, dass Stanolfettsäureester leicht in andere Nahrungsmittel als Margarine und Brot aufstriche eingearbeitet werden können wie in dieser Erfindung beschrieben. US-Patent Nr. 5,502,045 (2) gibt weitere Beispiele möglicher Verwendungen. Es ist jedoch für den Fachmann offensichtlich, dass Stanolfettsäureester zu vielen verschiedenen Nahrungsmitteln zugegeben werden können, insbesondere zu fetthaltigen Nahrungsmitteln.

**[0039]** Es wurden viele Verfahren zur Herstellung von Stanolfettsäureestern vorgeschlagen. Die Nachteile dieser Verfahren bestehen darin, dass bei fast all diesen Verfahren Stoffe verwendet werden, die für ein Produkt, das als Makroernährungszusatz in Nahrungsmitteln verwendet werden soll, nicht akzeptabel sind. Die Verwendung giftiger Stoffe wie Thionylchlorid oder Anhydrid-Derivaten von Fettsäuren ist üblich.

**[0040]** Das bevorzugte Verfahren zur Herstellung von Stanolfettsäureestern von Sterolen ist in US-Patent Nr. 5,502,045 (2) beschrieben. Dieses Verfahren basiert auf dem Interesterifizierungsverfahren, das in der Speisefett- und Speiseöllindustrie häufig verwendet wird. Das Veresterungsverfahren weicht darin in vorteilhafter Weise von früheren Verfahren ab, dass keine weiteren Stoffe außer dem freien Stanol, einem Fettsäureester oder einer Fettsäureestermischung und einem Umeste-rungskatalysator wie Natriumethylat verwendet werden. Ein wichtiges Merkmal dieses Verfahren besteht darin, dass einer der Stoffe, der Fettsäureester, im Überschuss verwendet wird und als Lösungsmittel fungiert, das das Stanol unter den eingesetzten Bedingungen (Vakuum 5–15 mm Hg) löst. Die Reaktion liefert ein Gemisch von Fettsäureestern und Stanolfettsäureestern. Die Stanolfettsäureester können durch Vakuumdestillation einfach zu fast reinen Stanolfettsäureestern konzentriert werden, wodurch der Überschuss an Fettsäureestern entfernt wird. Alternativ kann das Gemisch als solches vor der Durchführung des Desodorierungsschritts zum endgültigen Fettgemisch gegeben werden.

**[0041]** Stanole kommen in kleinen Mengen in der Natur vor, z. B. in Weizen, Roggen, Mais und Triticale, und können somit in kleinen Mengen in der täglichen Nahrung vorkommen (11, 14). Stanole können leicht durch Hydrierung natürlicher Sterolgemische hergestellt werden. Anfang 1996 waren nur Tallsterolgemische ausreichend hoher Reinheit (Sterolgehalt > 98%) zur Verwendung als solche in Nahrungsmitteln im Handel erhältlich. Pflanzensterole mit wesentlichem Gehalt an Campesterol wie Sterolmischungen auf Basis von Pflanzenöl erhalten man beispielsweise als Nebenprodukt der Tocopherol-Herstellung aus Pflanzenöldestillaten. Die so erhaltenen Pflanzensterole können durch bereits bekannte Hydrierungsverfahren in Stanole umgewandelt werden, wie etwa ein Verfahren, das auf der Verwendung eines Pd/C-Katalysators in organischen Lösungsmitteln basiert (7). Für den Fachmann ist es offensichtlich, dass eine Vielzahl von Pd-Katalysatoren und Lösungsmitteln zur Durchführung der Hydrierung verwendet werden können, bei der unter optimierten Bedingungen nur geringe Mengen ungesättigte Sterole nicht umgewandelt werden, während nur geringe Mengen der typischen dehydroxylierten Nebenprodukte Stane und Stene (< 1,5%) gebildet werden.

**[0042]** Die vorliegende Erfindung vergleicht die hypocholesterinämische Wirkung einer Stanolfettsäureestermischung, die einen hohen Gehalt an Sitostanolfettsäureester aufweist, wobei Sitostanol im Allgemeinen unter Experten auf dem Gebiet als sicherstes und wirksamstes Pflanzensterol zur Verminderung der Cholesterinabsorption und somit zur Senkung des Serumcholesterinspiegels mittels einer Stanolfettsäureestermischung, die eine wesentliche Menge Campestanolfettsäureester enthält, gilt. In dieser Patentbeschreibung wird zum ersten Mal die hypocholesterinämische Wirkung von veresterten Stanolen auf Basis von Pflanzenölen beim Menschen berichtet. In dieser Erfindung wird zum ersten Mal gezeigt, dass eine Stanolfettsäureestermischung mit einem wesentlichen Campestanolfettsäureestergehalt (über 20% und vorzugsweise etwa 30%) mindestens genauso wirksam ist wie Stanolfettsäureestermischungen mit hohem Sitostanolfettsäureestergehalt. Außerdem weisen die Ergebnisse der vorliegenden Studie deutlich darauf hin, dass Campestanol im Gegensatz zur Aussage von Heinemann et al. (20) praktisch nicht absorbiert wird.

#### Klinische Studien

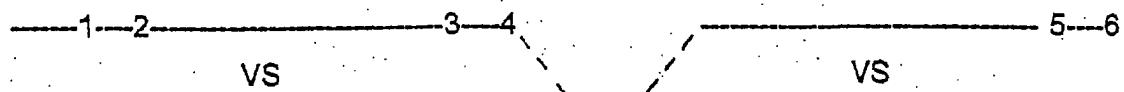
**[0043]** Zur Erforschung der hypocholesterinämischen Wirkung von Margarine mit Pflanzenölstanolester und Tallölstanolester wurde eine fünfwöchige Doppelblind-Cross-Over-Studie mit einer zweiwöchigen Ausspülungsphase angelegt. Der Versuchsaufbau der Studie war wie folgt:

#### Versuchsaufbau der Interventionsstudie

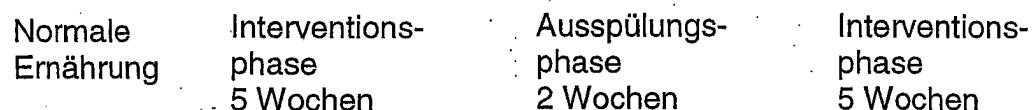
**[0044]** Die Zahlen 1–6 bezeichnen die Blutproben, die bei normaler Ernährung (1, 2), nach der ersten Interventionsphase (3, 4) und nach der zweiten Interventionsphase (5, 6) genommen wurden.

VS = Margarine mit Pflanzenölstanolester,  
TS = Margarine mit Tallölstanolester

Gruppe 1. (n = 12)



Gruppe 2. (n = 12)



**[0045]** Vierundzwanzig freiwillige, frei lebende, gesunde Frauen mit mäßig erhöhtem Cholesterinspiegel (Durchschnitt  $6,12 \pm 0,16$  mmol/l) verzehrten etwa 25 g pro Tag (einen 250 g Becher/10 Tage) der Testmargarine als Teil der täglichen Ernährung in zufälliger Reihenfolge. Die Serumlipide (Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin und Triglyceride) und der Serumsterolgehalt wurde bei normaler Ernährung und am Ende jeder Versuchsphase gemessen. Blutproben wurden bei normaler Ernährung zwei Mal im Abstand einer Woche genommen und am Ende jeder Phase mit Testmargarine. Die erhaltenen Serumlipidwerte sind unten in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1 – Serumlipidkonzentrationen (mmol/l, Mittel  $\pm$  SE) bei normaler Ernährung und nach fünfwochiger Behandlung mit Margarine mit Pflanzenölstanolester (VS) und Margarine mit Tallölstanolester (TS), (n = 24).

	Normale Ernährung	VS	TS
Gesamtcholesterin	$6.12 \pm 0.16$	$5.77 \pm 0.18^*$	$5.95 \pm 0.23$
LDL-Cholesterin	$4.03 \pm 0.15$	$3.60 \pm 0.17^*$	$3.76 \pm 0.19^*$
HDL-Cholesterin	$1.54 \pm 0.09$	$1.62 \pm 0.09^*$	$1.63 \pm 0.10^*$
Triglyceride	$1.22 \pm 0.13$	$1.20 \pm 0.11$	$1.26 \pm 0.15$

\*  $p < 0,05$  oder weniger

**[0046]** Beide Testmargarinen führten zu günstigen Veränderungen bei den Serumlipiden. Die Senkung der LDL-Cholesterinwerte und der Anstieg der HDL-Cholesterinwerte waren statistisch signifikant ( $p < 0,05$  oder weniger). Der Sterolester auf Basis von Pflanzenöl führte ebenfalls zu einer statistisch signifikanten Senkung des gesamten Cholesterins. Die erzielte Senkung des gesamten Cholesterins und des LDL-Cholesterins war bei der Margarine mit Pflanzenölstanolester im Vergleich zur Margarine mit Tallölstanolester höher. Es wurde keine Veränderung des Triglyceridgehalts erzielt. Die Ergebnisse bei den Serumlipiden weisen darauf hin, dass eine Margarine mit Pflanzenölstanolester, die eine wesentliche Menge Campestanol in ihrer Stanolfraktion enthält, sogar noch wirksamer sein könnte als die Margarine mit Tallölstanolester. Margarine mit Tallölstanolester hat in früheren Studien (14, 15, 31) effektive hypocholesterinämische Wirkung gezeigt. So kann auf der Grundlage des Cross-Over-Aufbaus dieser Studie geschlossen werden, dass Stanole auf Basis von Pflanzenöl mindestens genauso gute hypocholesterinämische Wirkung zeigen wie Stanole auf Basis von Tallöl.

**[0047]** Die Serumsterolkonzentrationen wurden mittels Gas-Flüssig-Chromatographie gemessen, gemäß einem früher veröffentlichten Verfahren (29, welches hiermit durch Bezugnahme aufgenommen wird). Das Mittel zweier Serumlipid-Messungen aus den Blutproben, die in jeder Phase genommen wurden, wurde berechnet. Die Werte für die Bemittelten Pflanzensterolkonzentrationen im Serum bei normaler Ernährung und nach jeder Versuchsphase und die durchschnittlichen Veränderungen dieser Konzentrationen sind unten in den Tabellen 2 und 3 dargestellt.

Tabelle 2 – Serumpflanzensterolkonzentrationen (Mittel  $\pm$  SE,  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) bei normaler Ernährung und nach jeder Interventionsphase ( $n = 24$ ). VS = Margarine mit Pflanzenölstanolester, TS = Margarine mit Tallölstanolester.

	Normale Ernährung	VS	TS
Campestanol	47 $\pm$ 2	58 $\pm$ 3	47 $\pm$ 3
Sitostanol	94 $\pm$ 3	92 $\pm$ 5	96 $\pm$ 5
Campesterol	472 $\pm$ 37	337 $\pm$ 25	350 $\pm$ 28
Sitosterol	277 $\pm$ 17	198 $\pm$ 12	227 $\pm$ 15

\*  $p < 0,05$  oder weniger

Tabelle 3 – Durchschnittliche Veränderung ( $\pm$  SE) der Serumpflanzensterolkonzentrationen ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ ), ( $n = 24$ ). VS = Margarine mit Pflanzenölstanolester, TS = Margarine mit Tallölstanolester, HD = normale Ernährung.

	$\Delta(\text{VS} - \text{HD})$	$\Delta(\text{TS} - \text{HD})$	$\Delta(\text{VS} - \text{TS})$
Campestanol	11 $\pm$ 2*	0 $\pm$ 2	11 $\pm$ 2*
Sitostanol	-2 $\pm$ 3	2 $\pm$ 4	-4 $\pm$ 4
Campesterol	-134 $\pm$ 19*	-122 $\pm$ 21*	-12 $\pm$ 13
Sitosterol	-80 $\pm$ 11	-51 $\pm$ 12*	-29 $\pm$ 8*

\*  $p < 0,05$  oder weniger

**[0048]** Beide Testmargarinen senkten den Serumcampesterol- und den Serumsitosterolspiegel deutlich. Die Campesterolkonzentration im Serum spiegelt bekanntermaßen die intestinale Cholesterinabsorption beim Menschen wieder (29, 39). Je kleiner also der Campesterolwert, desto geringer die prozentuale Absorption von intestinalem Cholesterin.

**[0049]** Ein deutliches Absinken des Serumcampesterolspiegels (25–28%) während der Versuchphasen weist darauf hin, dass die beiden Stanolestermargarinen die intestinale Cholesterinabsorption verringerten. Außerdem konnten keine Unterschiede in der Serumsitostanolkonzentration festgestellt werden, während die durchschnittliche Serumcampestanolkonzentration nach der Phase mit Pflanzenölstanolester deutlich höher war als bei normaler Ernährung und nach der Phase mit Tallölstanolester. Die absolute Campestanolkonzentration lag jedoch bei nur etwa 63% der Sitostanolkonzentration, das im Allgemeinen als praktisch nicht absorbierbar gilt. Diese geringe Campestanolkonzentration im Serum weist deutlich darauf hin, dass die Absorption von Campestanol sehr begrenzt ist, was im Widerspruch zu den von Heinemann et al. vorgelegten Ergebnissen (20) steht. Da Stanolmischungen mit hohem Sitostanolgehalt als ungefährlich für den menschlichen Verzehr gelten, müssen auch Stanolmischungen mit wesentlichen Mengen Campestanol aufgrund der Tatsache, dass Campestanol ebenso wie Sitostanol praktisch nicht absorbierbar ist, als ebenso unbedenklich angesehen werden.

**[0050]** Die Herstellung der Stanolesterzusammensetzung der Erfindung und der in den oben genannten klinischen Studien verwendeten Margarine wird in den folgenden Versuchsbeispielen detailliert beschrieben:

#### Beispiel 1: Hydrierung von Stanolmischungen.

**[0051]** Eine im Handel erhältliche Stanolmischung, die aus Pflanzenöldestillat erhalten wurde, (Zusammensetzung: Brassicasterol 2,7%, Campesterol 26,7%, Stigmasterol 18,4%, Sitosterol 49,1% und Sitostanol 2,9%) wurde in einem Pilotmaßstab-Reaktor (25 l) hydriert. 26 g eines faserigen Pd-Katalysators (Smop-20; Pd-Gehalt 10 Gew.-%, Smoptech, Turku, Finnland), 26 g destilliertes Wasser zur Aktivierung des Katalysators und 11,7 kg Propanol wurden in den Reaktor gefüllt. Der Reaktor wurde mit Stickstoff gespült und die Aktivierung des Katalysators wurde unter Wasserstoffgas bei einem Druck von 1 bar und einer Temperatur von 65°C 30 Minuten lang durchgeführt. Nach der Aktivierung wurde das Gemisch auf 40°C abgekühlt, anschließend wurden 1,3 kg des Sterolgemisches zugegeben.

**[0052]** Die Propanol-Sterol-Mischung wurde in einer Stickstoffatmosphäre auf 65°C erhitzt, anschließend wurde Stickstoff durch Wasserstoff ersetzt. Anschließend wurde gründlich mit Wasserstoff gespült und die Hy-

dierungsreaktion bei einem Wasserstoffdruck von 1 bar durchgeführt. Die normale Umwandlungszeit beträgt etwa 120 Minuten. Die Umwandlung kann einfach durch Entnahme von Aliquoten überwacht werden, die durch HPLC analysiert werden.

**[0053]** Der Wasserstoffdruck wurde verringert und der Reaktor mit Stickstoff gespült. Der faserige Katalysator wurde mit Stickstoffdruck abgefiltert. Man ließ das Propanol-Stanol-Gemisch über Nacht bei 10°C kristallisieren, die Stanolkristalle wurden anschließend vakuumfiltriert und der Filterkuchen wurde mit 0,5 kg kaltem Propanol gewaschen. Die so erhaltene Stanolmischung wurde bei 60°C in einem Vakumschrank getrocknet. Die Ausbeute betrug 75% und die Zusammensetzung der erhaltenen Stanolmischung war gemäß Kapillar-Gaschromatographie-Analyse wie folgt: Campesterol 0,2%, Campestanol 28,9%, Stigmasterol 0,1%, Sitosterol 0,2%, Sitostanol 70,1%. Es ist anzumerken, dass Brassicasterol zu 24 $\beta$ -Methylcholestanol, einem Campestanol-Epimer, hydriert wird, da sie jedoch bei gewöhnlichen Kapillar-Gaschromatographieverfahren, die nicht nach Chiralität trennen können, im selben Peak erscheinen, wird es gewöhnlicher Weise als Campestanol gerechnet. Auf Grundlage der Ausgangssterolmischung sollte der 24 $\beta$ -Methylcholestanol-Gehalt bei 2,7% liegen.

#### Beispiel 2: Herstellung von Stanolfettsäureestern.

**[0054]** Eine Stanolfettsäureestermischung wurde im Pilotmaßstab hergestellt. 6 kg Stanole, die man durch Kombination verschiedener Ansätze aus dem in Beispiel 1 beschriebenen Hydrierungsverfahren erhielt, wurden über Nacht bei 60°C getrocknet und mit 8,6 kg von erucasäurearmem Rapsöl-Methylester-Gemisch verestert. Die verwendeten Stanolgemische wiesen folgende Sterolzusammensetzung auf: Campesterol 0,4%, Campestanol (+ 24 $\beta$ -Methylcholestanol) 29,7%, Stigmasterol 0,1%, Sitosterol 0,4% und Sitostanol 68,0%. Der Stanolgehalt des Gemisch lag bei 98,2%. Die Veresterung wurde wie folgt durchgeführt: Eine Mischung von Stanolen und dem erucasäurearmem Rapsöl-Methylester wurde in einem Reaktionsgefäß bei 90–120°C in einem Vakuum von 5–15 mm Hg erhitzt. Nach einstündiger Trocknung wurden 21 g Na-Ethylat zugegeben und die Reaktion wurde für zwei Stunden fortgesetzt. Der Katalysator wurde durch Zugabe von 30 Gew.-% Wasser bei 90°C zerstört. Nach der Phasentrennung wurde die Wasserphase entfernt und ein zweites Mal gewaschen. Nach der Abtrennung der Wasserphase wurde die ölige Phase bei 95°C unter Rühren bei 200 U/min vakuumgetrocknet. Die Stanolfettsäureestermischung wurde 20 Minuten lang bei 30 mm Hg und einer Temperatur von 110°C mit 1,0% Bleicherde (Tonsil Optimum FF, Südchemie, Deutschland) unter Rühren bei 200 U/min leicht gebleicht. Die Bleicherde wurde abfiltriert und die so erhaltene Mischung von Fettsäuremethylestern und Stanolfettsäureestern kann als solche vor der Desodorierung zu Fettgemischen gegeben werden oder der Methylesterüberschuss kann im Vakuum abdestilliert werden. Das Gemisch kannentsprechend desodoriert werden, um eine geschmacklose Stanolfettsäureestermischung zu erhalten, die als solche bei verschiedenen Nahrungsmittelherstellungsverfahren zugegeben werden kann.

**[0055]** Die Umwandlung des Veresterungsverfahrens liegt normaler Weise bei > 99%, gemessen durch ein schnelles HPLC-Verfahren, und die Ausbeute liegt im Bereich von 95%.

#### Beispiel 3: Herstellung von Margarine für die klinischen Studien.

**[0056]** 80% Margarinen mit Tallölstanolfettsäureestern und mit Stanolfettsäureestern auf Basis von Pflanzenöl wurden in einem Gerstenberg & Agger 3 × 57 Perfector im Pilotmaßstab hergestellt. Tallölstanolfettsäureester wurden aus der normalen Herstellung von Benecol®-Margarine von Raison Margariini, Finnland, erhalten. Es wurde ein normales Fettgemisch ohne Trans-Fettsäuren (Zusammensetzung: 30% nicht hydriertes umgeestertes Pflanzenfett und 70% flüssiges LEAR-Öl), zu dem die Stanolfettsäuremischungen zugegeben wurden, verwendet. Der angestrebte Stanolgehalt des Endprodukts lag bei 12 g/100 g Produkt, was eine tägliche Aufnahme von 3 g Stanolen bei einem Verzehr von 25 g/Tag ergeben würde. Die Produkte wurden gemäß dem folgenden Rezept hergestellt:

Fettgemisch einschließlich der Stanolfettsäureester	80%
Wasser	19%
Salz	0,5%
Emulgator, Dimodan BP	
Na-Bicarbonat und Zitronensäure als pH-Regler	
$\beta$ -Carotin als Farbstoff	
Geschmackstoffe.	

**[0057]** Die erhaltene Margarine wurde in 250 g Polypropen-Becher verpackt, die mit Aluminiumfolie versiegelt wurden. Geschmack und Textur der Produkte entsprachen denen von handelsüblicher Margarine.

**[0058]** Der Stanolgehalt der Tallölstanolmargarine lag bei 12,7 g/100 g Produkt und der der Margarine mit Stanol auf Basis von Pflanzenöl bei 12,6 g/100 g Produkt. Die Sterolzusammensetzung der beiden Produkte war wie folgt:

	Margarine mit Tallölstanoester	Margarine mit Pflanzenölstanoester
Brassicasterol	0.3%	0.4%
Campesterol	2.2%	2.4%
Campestanol	7.5%	27.6%
Sitosterol	7.4%	4.2%
Sitostanol	82.5%	63.8%
Andere	0.1%	1.6%

#### Literaturverzeichnis:

- Ref. Nr. US-Patente
- 1 Eugster C, Eugster C, Haldemann W, Rivara G. Sterols, their fatty acid esters and glucosides; processes for their preparation; spontaneously dispersible agents containing these compounds, and their use for treatment of tumors. 1993. US Patent No 5,270,041.
- 2 Miettinen TA, Vanhanen H, Wester I. Use of stanol fatty acid ester for reducing serum cholesterol level. 1996. US Patent No 5,502,045.
- 3 Straub CD. Stanols to reduce cholesterol absorption from foods and methods of preparation and use thereof. 1993. US Patent No 5,244,887.
- 4 Clear cooking and salad oils having hypcholesterolemic properties. 1973. US Patent No 3,751,569.
- Sonstige Patente
- 5 Baltes J, Merkle R. Verfahren zur Herstellung eines Gemisches aus pflanzlichen und tierischen Ölen bzw. Fetten und Fettsäureresternestern. Deutsches Patent DE 22 48 921.
- Sonstige Veröffentlichungen
- 6 Armstrong MJ, Carey MC. Thermodynamic and molecular determinants of sterol solubilities in bile salt micelles. *J Lipid Res* 1987; 28: 1144–1155.
- 7 Augustine RL, Reardon Jr. EJ 1969. The palladium catalyzed hydrogenation of cholesterol. *Org Prep and Proced* 1969; 1: 107–109.
- 8 Becker M, Staab D, Von Bergmann K. Treatment of severe familial hypercholesterolemia in childhood with sitosterol and sitostanol. *J pediatr* 1993; 122: 292–296.
- 9 Czubayko F, Beumers B, Lammsfuss S, Lütjohann D, von Bergmann K. A simplified micro-method for quantification of fecal excretion of neutral and acidic sterols for outpatient studies in humans. *J Lipid Res* 1991; 32: 1861–1867.
- 10 Dayal B, Tint GS, Batta AK, Speck J, Khachadurian AK, Shefer S, Salen G. Identification of 5- $\alpha$ -stanols in patients with sitosterolemia and xanthomatosis: stereochemistry of the protonolysis of steroid organoboranes. *Steroids* 1982; 40: 233–243.
- 11 Dutta PC, Appelqvist LÅ. Saturated sterols (stanols) in unhydrogenated and hydrogenated edible vegetable oils and in cereal lipids. *J Sci Food Agric* 1996; 71: 383–391.
- 12 Grundy SM, Mok HYI. Effects of low dose phytosterols on cholesterol absorption in man. In: Gerten H (Ed.) *Lipoprotein metabolism*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1976: 112–118.
- 13 Gylling H, Miettinen TA. Serum cholesterol lowering by dietary sitostanol is associated with reduced absorption and synthesis of cholesterol and decreased transport of LDL apoprotein B in men with type II diabetes. In: Gotto Jr AM, Mancini M, Richter WO, Schwandt P (Eds.) *Treatment of severe dyslipoproteinemia in the prevention of coronary heart disease*. 4th Int Symp Munich 1992, Karger, Basel, 1993: 57–59.
- 14 Gylling H, Miettinen TA. Serum cholesterol and cholesterol and lipoprotein metabolism in hypercholesterolemic NIDDM patients before and during sitostanol ester-margarine treatment. *Diabetologia* 1994; 37: 773–780.
- 15 Gylling H, Siimes MA, Miettinen TA. Sitostanol ester margarine in dietary treatment of children with familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 1995; 36: 1807–1912.
- 16 Hassan AS, Rampone AJ. Intestinal absorption and lymphatic transport of cholesterol and  $\beta$ -sitostanol in the rat. *J Lipid Res* 1979; 20: 646–653.

- 17 Heinemann T, Leiss O, von Bergmann K. Effect of low-dose sitostanol on serum cholesterol in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1986; 61: 219–223.
- 18 Heinemann T, Pietruck B, Kullack-Ublick G, von Bergmann K. Comparison of sitosterol and sitostanol an inhibition of intestinal cholesterol absorption. *Agents Actions (Suppl)* 1988; 26: 117–122.
- 19 Heinemann T, Kullak-Ublick G-A, Pietruck B, von Bergmann K. Mechanisms of action of plant sterols on inhibition of cholesterol absorption. *Eur J Clin Pharmacol* 1991; 40: 59–63.
- 20 Heinemann T, Axtmann G, von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 827–831.
- 21 Ikeda I, Sugano M. Comparison of absorption and metabolism of  $\beta$ -sitosterol and  $\beta$ -sitostanol in rats. *Atherosclerosis* 1978; 30: 227–237.
- 22 Ikeda I, Tanabe Y, Sugano M. Effects of sitosterol and sitostanol on micellar solubility of cholesterol. *J Nutr Sci Vitaminol* 1989; 35: 361–369.
- 23 Ikeda I, Kawasaki A, Samezima K, Sugano M. Antihypercholesterolemic activity of  $\beta$ -sitostanol in rabbits. *J Nutr Sci Vitaminol* 1981; 27: 243–251.
- 24 Jandacek RJ, Webb MR, Mattson FH. Effect of an aqueous phase on the solubility of cholesterol in an oil phase. *J Lipid Res* 1977; 18: 203–210.
- 25 Lees RS, Lees AM. Effects of sitosterol therapy on plasma lipid and lipoprotein concentrations. In: Greten H (Ed.) *Lipoprotein metabolism*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1976: 119–124.
- 26 Lees AM, Mok HYI, Lees RS, McCluskey MA, Grundy SM. Plant sterols as cholesterol-lowering agents: clinical trials in patients with hypercholesterolemia and studies of sterol balance. *Atherosclerosis* 1977; 28: 325–338.
- 27 Ling WH, Jones PJH. Minireview dietary phytosterols: A review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sciences* 1995; 57: 195–206.
- 28 Mattson FH, Grundy SM, Crouse JR. Optimizing the effect of plant sterols on cholesterol absorption in man. *Am J Clin Nutr* 1982; 35: 697–700.
- 29 Miettinen TA, Koivisto P. Non-cholesterol sterols and bile acid production in hypercholesterolemia patients with ileal bypass. In: Paumgarter G, Stiehl A, Gerok W (Eds.). *Bile acid and concentration in health and disease*. MTP Press, Boston 1983: 183–187.
- 30 Miettinen TA, Vanhanen H. Dietary sitostanol related to absorption, synthesis and serum level of cholesterol in different apolipoprotein E phenotypes. *Atherosclerosis* 1994; 105: 217–226.
- 31 Miettinen TA, Puska P, Gylling H, Vanhanen H, Vartiainen E. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *New Engl J Med* 1995; 333: 1308–1312.
- 32 Pollak OJ. Effect of plant sterols on serum lipids and atherosclerosis. *Pharmac Ther* 1985; 31: 177–208.
- 33 Salen G, Ahrens Jr. EH, Grundy SM. Metabolism of  $\beta$ -sitosterol in man. *J Clin Invest* 1970, 49: 952–967. *J Nutr Sci Vitaminol* 1981; 27: 243–251.
- 34 Sugano M, Kamo F, Ikeda I, Morioka H. Lipid-lowering activity of phytostanols in rats. *Atherosclerosis* 1976; 24: 301–309.
- 35 Sugano M, Morioka H, Ikeda I. A comparison of hypocholesterolemic activity of  $\beta$ -sitosterol and  $\beta$ -sitostanol in rats. *J Nutr* 1977; 107: 2011–2019.
- 36 Vanhanen HT, Miettinen TA. Effects of unsaturated and saturated dietary plant sterols on their serum contents. *Clin Chim Acta* 1992; 205: 97–107.
- 37 Vanhanen HT, Blomqvist S, Enholm C, Hyvönen M, Jauhainen M, Torstila I, Miettinen TA. Serum cholesterol, cholesterol precursors, and plant sterols in hypercholesterolemic subjects with different apoE phenotypes during dietary sitostanol ester treatment. *J Lipid Res* 1993; 34: 1535–1544.
- 38 Vanhanen HT, Kajander J, Lehtovirta H, Miettinen TA. Serum levels, absorption efficiency, faecal elimination and synthesis of cholesterol during increasing doses of dietary sitostanol esters in hypercholesterolaemic subjects. *Clin Sci* 1994; 87: 61–67.
- 39 Tilvis RS, Miettinen TA. Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption. *Am J Clin Nutr* 1986; 43: 92–97.

### Patentansprüche

1. Zusammensetzung von Pflanzenstanolfettsäureestern, die einen Sitostanolfettsäureester und mindestens 20 Gew.-% Campestanolfettsäureester umfasst.
2. Zusammensetzung von Pflanzenstanolfettsäureestern zur Absenkung des Serumcholesterinspiegels,

wobei die Zusammensetzung einen Sitostanolfettsäureester und mindestens 20 Gew.-% Campestanolfettsäureester umfasst.

3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, die zwischen 20 und 40 Gew.-% Campestanolfettsäureester umfasst.
4. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1–3, die zwischen 25 und 35 Gew.-% Campestanolfettsäureester umfasst.
5. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1–4, die 30 Gew.-% Campestanolfettsäureester umfasst.
6. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1–5, die zwischen 50 und 80 Gew.-% Sitostanolfettsäureester umfasst.
7. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1–6 zur Verwendung als solche zur Absenkung des Serumcholesterinspiegels.
8. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1–6 zur Verwendung als Teil einer Diät zur Absenkung des Serumcholesterinspiegels.
9. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1–6 als Teil einer Diät, die ein fetthaltiges Nahrungsmittel zur Absenkung des Serumcholesterinspiegels umfasst.
10. Verwendung einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1–6 zur Herstellung eines essbaren Produkts.
11. Nahrungsmittel, das eine Pflanzenstanolfettsäureesterzusammensetzung enthält, die eine Absenkung des Serumcholesterinspiegels bewirkt, wobei die Zusammensetzung einen Sitostanolfettsäureester und mindestens 20 Gew.-% Campestanolfettsäureester enthält.
12. Nahrungsmittel nach Anspruch 11, wobei die Zusammensetzung zwischen 20 und 40 Gew.-% Campestanolfettsäureester umfasst.
13. Nahrungsmittel nach Anspruch 11 und 12, wobei die Zusammensetzung zwischen 25 und 35 Gew.-% Campestanolfettsäureester umfasst.
14. Nahrungsmittel nach einem der Ansprüche 11 bis 13, wobei die Zusammensetzung 30 Gew.-% Campestanolfettsäureester umfasst.
15. Nahrungsmittel nach einem der Ansprüche 11 bis 14, wobei die Zusammensetzung zwischen 50 und 80 Gew.-% Sitostanolfettsäureester umfasst.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen