



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 36 484 T2** 2008.03.13

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 954 983 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 36 484.1**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 105 495.8**

(96) Europäischer Anmeldetag: **17.03.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **10.11.1999**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **11.07.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **13.03.2008**

(51) Int Cl.⁸: **A23L 1/30** (2006.01)

C11C 3/10 (2006.01)

C11B 3/00 (2006.01)

C11C 1/02 (2006.01)

C11C 3/02 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

C11C 3/14 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

72421 04.05.1998 US

72422 04.05.1998 US

(73) Patentinhaber:

Natural ASA, Lysaker, NO

(74) Vertreter:

**Hössle Kudlek & Partner, Patentanwälte, 70173
Stuttgart**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

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

(72) Erfinder:

**Jerome, Daria, Detroit Lakes, Minnesota 56502,
US; Skarie, Carl, Detroit Lakes, Minnesota 56502,
US**

(54) Bezeichnung: **Konjugierte Linolsäurezusammensetzung, die mit Isomeren angereichert ist und deren Verwendung**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft das Gebiet der menschlichen und tierischen Ernährung, und insbesondere Zusammensetzungen, die konjugierte Linolsäuren (CLA) enthalten.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Die konjugierte Linolsäure (CLA) ist in den Brennpunkt zahlreicher Forschungsprogramme gerückt, in denen nach Möglichkeiten gesucht wird, einen Nutzen aus ihren ernährungsmäßigen, therapeutischen und pharmakologischen Eigenschaften zu ziehen.

[0003] Es ist gezeigt worden, dass die Umlagerung der Doppelbindungen von Linolsäure in konjugierte Positionen während einer Behandlung mit Katalysatoren wie Nickel oder Alkali bei hohen Temperaturen und während einer Autooxidation erfolgt. Theoretisch würden sich acht mögliche geometrische Isomere der 9,11- und 10,12-Octadecadiensäure (c9,c11; c9,t11; t9,c11; t9,t11; c10,c12; c10,t12; t10,c12 und t10,t12) aus der Isomerisierung von c9,c12-Octadecadiensäure bilden. Ein allgemeiner Mechanismus für die Linolsäure-Isomerisierung wurde von J.C. Cowan in JAOCS 72: 492-99 (1950) beschrieben. Es wird geglaubt, dass die Doppelbindung als Resultat eines Stoßes von einem aktivierenden Katalysator polarisiert wird. Das polarisierte Kohlenstoffatom und sein unmittelbar benachbarter Kohlenstoff sind dann frei zum Rotieren, und die Kräfte sind dergestalt, um das instabile Kohlenstoffatom im Wesentlichen planar zu machen. Verschiebt sich das System, um diese Kräfte abzuschwächen, die als Resultat des Stoßes auftreten, so werden sowohl cis- als auch trans-Isomere gebildet. Die Bildung bestimmter CLA-Isomere ist thermodynamisch begünstigt. Dies erfolgt aufgrund der coplanaren Charakteristika der fünf Kohlenstoffatome in Nähe der konjugierten Doppelbindung und eines räumlichen Konflikts des Resonanzradikals. Der relativ höhere Anteil an 9,11- und 10,12-Isomeren scheint aus der weiteren Stabilisierung der c9,t11- oder t10,c12-geometrischen Isomere zu resultieren.

[0004] Fortschritte in der Gaschromatographie haben es Forschern ermöglicht, die isomere Zusammensetzung von CLA-Proben genau zu bestimmen. In Christie et al., JAOCS 74 (11): 1231 (1997) wird berichtet, dass die Isomerverteilung einer handelsüblichen CLA-Probe folgendermaßen war: 8,10 (14%); 9,11 (30%); 10,12 (31%) und 11,13 (24%). In einer anderen von Christie et al. veröffentlichten Untersuchung, die in Lipids 33(2): 217-21 (1998) erschien, wurde die folgende Isomerzusammensetzung eines handelsüblichen CLA-Präparats genannt: t11,t13 (0,74%); t10,t12 (1,23%); t9,t11 (1,18%); t8,t10 (0,46%); c11,t13 und t11,c13 (21,7%); c10,t12 und t10,c12 (29,0%); c9,t11 und t9,c11 (29,5%); c8,t10 und t8,c10 (12,3%); c11,c13 (0,96%); c10,c12 (0,88%); c9,c11 (0,88%) und c8,c10 (0,20%). Aus diesen Untersuchungen ist ersichtlich, dass selbst dann, wenn die Bildung bestimmter Isomere begünstigt ist, weitere CLA-Isomere zu der Zusammensetzung von alkali-isomerisierten CLA-Präparaten erheblich beitragen können.

[0005] 1978 entdeckten Forscher der University of Wisconsin die Identität einer in gekochtem Rindfleisch enthaltenen Substanz, welche die Mutagenese zu hemmen schien. Diese Substanz wurde als CLA bestimmt. Fettsäuren mit konjugierten ungesättigten Bindungen sind normalerweise nicht Bestandteile der Rinderernährung. Allerdings wird c9,t11-Octadecadiensäure im Pansen als ein erstes Intermediat in der Biohydrierung von Linolsäure mit Hilfe der Linolsäure-Isomerase vom anaeroben Bakterium Butyrivibrio fibrisolvens gebildet, wie von Kegler et al. J. Biol. Chem. 241: 1350-54 (1966) berichtet.

[0006] Die biologische Aktivität einzelner CLA-Isomere ist Gegenstand mancher Spekulation gewesen. Allgemein lässt die Literatur vermuten, dass das biologisch aktive Isomer das c9,t11-Isomer ist, das von Butyrivibrio fibrisolvens gebildet wird (für einen Überblick, der diese Position stützt, siehe P.W. Parodi, J. Nutr. 127(6): 1055-60 (1997), M.A. Belury, Nutrition Reviews 53(4): 83-9 (1995)). Weitere Daten, die diese Vermutung untermauern, erscheinen in Ha et al., Cancer Res., 50: 1097 (1991). Dort führten die Forscher Untersuchungen über die markierte Aufnahme durch, die andeuten, dass das 9,11-Isomer scheinbar etwas bevorzugt aufgenommen und in die Phospholipid-Fraktion von tierischen Geweben eingebaut wird, was auch in geringerem Maße für das 10,12-Isomer zutrifft.

[0007] Die mit CLA assoziierte biologische Aktivität ist vielfältig und komplex. Bis heute ist sehr wenig über den Wirkmechanismus von CLA bekannt, obwohl mehrere in Arbeit befindliche präklinische und klinische Studien wahrscheinlich über die physiologischen und biochemischen Wirkungsweisen neuen Aufschluss geben werden. Die antikarzinogenen Eigenschaften von CLA sind gut dokumentiert. Eine Verabreichung von CLA hemmt die Mammatumorgenese bei Ratten, wie von Ha et al., Cancer Res., 52: 2035-s (1992) gezeigt. Ha et al., Cancer Res., 50: 1097 (1990) berichtete von ähnlichen Ergebnissen bei einem Mausvordermagen-Neoplasie-Modell. CLA ist auch als ein starkes cytotoxisches Agens gegen das humane Melanom, Colorektalkrebszel-

len und Brustkrebszellen in vitro identifiziert worden. Ein neuer Übersichtsartikel bestätigt die aus einzelnen Studien gezogenen Schlüsse (Ip, Am. J. Clin. Nutr. 66(6): 1523s (1997)).

[0008] Obwohl die CLA-Wirkmechanismen noch nicht bekannt sind, ist es offensichtlich, dass manche Komponente bzw. Komponenten des Immunsystems zumindest in vivo beteiligt sein können. U.S. Patent Nr. 5.585.400 (Cook et al.) offenbart ein Verfahren zur Abschwächung allergischer Reaktionen in Tieren, die von Typ I oder TgE-Hypersensibilität vermittelt sind, durch eine Verabreichung einer CLA-haltigen Diät. Es ist ebenfalls gezeigt worden, dass CLA in Konzentrationen von etwa 0,1 bis 1,0 Prozent ein wirksames Adjuvans beim Schutz weißer Blutzellen ist. In U.S. Patent Nr. 5.674.901 (Cook, et al.) ist offenbart, dass eine orale oder parenterale Verabreichung von CLA entweder in Form einer freien Säure oder als Salz zu einer Erhöhung von CD-4 und CD-8-Lymphocyten-Subpopulationen führte, die mit einer Zellvermittelten Immunität einherging. Nachteilige Wirkungen, die aus einer Vorbehandlung mit exogenem Tumor-Nekrose-Faktor erwachsen, konnten indirekt durch Erhöhen oder Aufrechterhalten der Niveaus von CD-4 und CD8-Zellen in Tieren gelindert werden, denen CLA verabreicht worden war. Schließlich beschreibt U.S. Patent Nr. 5.430.066 die Wirkung von CLA bei der Verhinderung von Gewichtsverlust und Anorexie durch eine Immunstimulierung.

[0009] Abgesehen von potenziellen therapeutischen und pharmakologischen Anwendungen von CLA, wie sie oben angeführt sind, hat es viel Aufregung hinsichtlich der Verwendung von CLA in der Nahrung als ein Nahrungsergänzungsmittel gegeben. Es ist festgestellt worden, dass CLA eine große allgemeine Wirkung auf die Körperbeschaffenheit ausübt, insbesondere eine Umleitung der Verteilung von fetter und magerer Gewebemasse. U.S. Patent Nr. 5.554.646 (Cook, et al.) offenbart ein Verfahren, das CLA als ein Nahrungsergänzungsmittel nutzt, in dem Schweine, Mäuse und Menschen mit einer 0,5 Prozent CLA-haltigen Nahrung ernährt wurden. Bei jeder Spezies wurde eine signifikante Abnahme des Fettgehalts bei einer gleichzeitigen Zunahme der Proteinmasse beobachtet. Interessant ist, dass bei diesen Tieren eine Erhöhung des Fettsäuregehalts der Nahrung durch Zugabe von CLA zu keiner Zunahme des Körpergewichts führte, aber mit einer Umverteilung von Fett und Magergewebe im Körper verbunden war. Ein weiteres interessantes Nahrungsphänomen ist die Wirkung der CLA-Ergänzung auf die Futterkonversion. U.S. Patent Nr. 5.428.072 (Cook, et al.) lieferte Daten, die zeigen, dass die Beimengung von CLA in Tierfutter (Vögel und Säuger) die Effizienz der Nahrungsmittelkonversion steigerte, was zu einer größeren Gewichtszunahme bei den CLA-ergänzten Tieren führte.

[0010] Die möglichen vorteilhaften Wirkungen einer CLA-Ergänzung für Tierfutterproduzenten sind offensichtlich. Es besteht ein Bedarf danach, zu bestimmen, welches die tatsächlichen biologisch aktiven Isomere und die genauen Verhältnisse sind, mit denen die Isomere verwendet werden sollten.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0011] Die wissenschaftliche Literatur lässt vermuten, dass das aktive CLA-Isomer das c9,t11-Isomer ist. Wie hierin allerdings gezeigt, besitzt ein erhöhtes Verhältnis von 10,12- zu 9,11-Isomeren einen deutlichen Effekt auf die biologische Aktivität von CLA-Präparaten. Deshalb besteht eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung in der Bereitstellung von Zusammensetzungen, die CLA-Isomere in biologisch vorteilhaften Verhältnissen umfassen. Es ist auch eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Verfahren zur Verwendung von Zusammensetzungen bereitzustellen, die CLA-Isomere in biologisch vorteilhaften Verhältnissen umfassen und die biologisch aktive Isomere mit einem angereicherten Gehalt zur Optimierung der erwünschten biologischen Wirkungen enthalten.

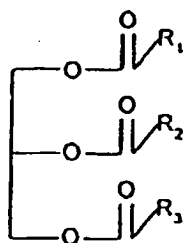
[0012] Demgemäß stellt die Erfindung eine konjugierte Linsolsäurezusammensetzung, die mindestens 80% t10,c12-Octadecadiensäure nach einem der Ansprüche 1 bis 7 enthält, und deren Verwendung wie definiert in den Ansprüchen 8 bis 15 bereit. In einigen Ausführungsformen wird eine konjugierte Linsolsäurezusammensetzung bereitgestellt, die 10,12-Linsäure und 9,11-Linsäure umfasst, am meisten bevorzugt t10,c12 konjugierte Linsäure und c9,t11 konjugierte Linsäure, in einem Verhältnis größer als 1,2:1, am bevorzugtesten in einem Bereich von etwa 1,2:1 bis 3:1. In anderen Ausführungsformen kann die bereitgestellte konjugierte Linsäurezusammensetzung auch Teil einer täglichen Ration einer menschlichen oder tierischen Nahrung sein. Die tägliche Ration umfasst ein Vehikel bzw. einen Träger mit einer Flüssigkeitskomponente. Die Flüssigkeitskomponente enthält oder umfasst 0,01 bis 10 g Äquivalent von 10,12 konjugierter Linsäure, bevorzugt t10,c12 konjugierter Linsäure. Alternativ wird in anderen Ausführungsformen eine Zusammensetzung bereitgestellt, die Linsäureisomere beinhaltet oder umfasst, wobei die Isomere dadurch charakterisiert sind, dass sie eine Mischung von mehr als 90% t10,c12 und c9,t11-CLA-Isomere beinhalten oder umfassen. In einigen Ausführungsformen sind die Isomere in einem Verhältnis von etwa größer 1,2:1 zu Gunsten von t10,c12 zugegen.

[0013] In anderen Ausführungsformen wird eine konjugierte Linolsäurezusammensetzung bereitgestellt, die mindestens 50% konjugierte Linolsäureisomere beinhaltet oder umfasst. Die CLA-Isomere können dadurch charakterisiert sein, dass sie mehr als 90% einer Mischung von t10,c12 und c9,t11-Isomere beinhalten. Vorzugsweise ist das Verhältnis dieser Isomere größer als 1,2:1 zu Gunsten des t10,c12-Isomers.

[0014] In anderen Ausführungsformen werden noch andere Zusammensetzungen und Präparate bereitgestellt, die mit t10,c12-CLA angereichert sind. In einer ersten Ausführungsform der Erfindung ist die t10,c12-CLA wenigstens ungefähr zu 80% rein, in anderen Ausführungsformen ist die t10,c12-CLA wenigstens ungefähr zu 90% rein und in noch anderen Ausführungsformen ist die t10,c12-CLA wenigstens ungefähr zu 92% rein.

[0015] In einigen Ausführungsformen werden Zusammensetzungen bereitgestellt, die zur Fütterung von Tieren und anderen Menschen mit c9,t11-CLA angereichert sind. In einigen Ausführungsformen ist das Verhältnis von c9,t11-CLA zu t10,c12-CLA von 1,4:1 bis 3,0:1. In anderen Ausführungsformen ist das Verhältnis von c9,t11-CLA zu t10,c12-CLA von 1,8:1 zu 2,2:1. In noch anderen Ausführungsformen ist das Verhältnis von c9,t11-CLA zu t10,c12-CLA 2,0:1.

[0016] Die obigen Zusammensetzungen können in Acylglyceride oder Alkylester eingebaut sein. In einigen Ausführungsformen umfasst die Acylglycerol-Zusammensetzung eine Vielzahl an Acylglycerol-Molekülen mit der Struktur:



worin R_1 , R_2 und R_3 aus der Gruppe, bestehend aus einer Hydroxylgruppe und einer Octadecadiensäure ausgewählt sind, wobei die Zusammensetzung dadurch gekennzeichnet ist, dass sie wenigstens 80% t10,c12-Octadecadiensäure an den Positionen R_1 , R_2 und R_3 enthält. In anderen Ausführungsformen ist die Acylglycerol-Zusammensetzung dadurch gekennzeichnet, dass sie wenigstens 90% t10,c12-Octadecadiensäure an den Positionen R_1 , R_2 und R_3 enthält. In noch anderen Ausführungsformen ist die Acylglycerol-Zusammensetzung dadurch gekennzeichnet, dass sie wenigstens 92% t10,c12-Octadecadiensäure an den Positionen R_1 , R_2 und R_3 enthält. In anderen Ausführungsformen kann die c9,t11 angereicherte CLA an Positionen R_1 , R_2 und R_3 des Acylglycerols gemäß den oben beschriebenen Verhältnissen und Anteilen eingebunden sein.

[0017] In weiteren Ausführungsformen können die angereicherten t10,c12-Zusammensetzungen und die angereicherten c9,t11-Zusammensetzungen in Lebensmittelprodukte eingebaut sein, einschließlich Tierfuttermittel und Lebensmittel für den menschlichen Verzehr, oder können mit einem Träger oder oralen Darreichungsvehikel formuliert sein.

[0018] In anderen Ausführungsformen finden die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung eine große Vielfalt von Ernährungs-, therapeutischen und pharmakologischen Anwendungen. Zusammensetzungen, die c9,t11 enthalten, können verwendet werden, um Wachstum, Nahrungseffizienz und Wachstumsrate zu steigern. Demgemäß werden in manchen Ausführungsformen ein Tier und eine für c9,t11-CLA angereicherte Zusammensetzung bereitgestellt. In einigen Ausführungsformen ist das Verhältnis von c9,t11-CLA zu t10,c12-CLA von 1,4:1 bis 3,0:1. In anderen Ausführungsformen ist das Verhältnis von c9,t11-CLA zu t10,c12-CLA von 1,8:1 zu 2,2:1. In noch anderen Ausführungsformen ist das Verhältnis von c9,t11-CLA zu t10,c12-CLA 2,0:1. In anderen Ausführungsformen umfasst die angereicherte c9,t11-CLA-Zusammensetzung 40 bis 60% c9,t11-CLA und 20 bis 30% t10,c12-CLA. In anderen Ausführungsformen wird das angereicherte c9,t11-Präparat den Tieren verabreicht, so dass Futterumwandlung, Wachstum und Wachstumsrate vergrößert werden. Zusammensetzungen, die t10,c12-CLA enthalten, können zur Reduzierung von Körperfett bei Menschen und Tieren verwendet werden.

[0019] Demgemäß wird in einigen Ausführungsformen ein Tier und eine t10,c12-CLA-Zusammensetzung bereitgestellt.

[0020] In einigen Ausführungsformen ist die t10,c12-CLA wenigstens zu 80% rein, in anderen Ausführungs-

formen ist die t10,c12-CLA wenigstens zu 90% rein und in noch anderen Ausführungsformen ist die t10,c12-CLA wenigstens zu 92% rein. In noch weiteren Ausführungsformen wird das t10,c12-Präparat an das Tier, einschließlich Menschen, verabreicht, so dass das Körperfett vermindert wird. Andere Verwendungen für diese Zusammensetzungen umfassen: Vergrößern der Muskelmasse bei Tieren, Vermindern allergischer Reaktionen bei Tieren, Vermeiden von Gewichtsverlust aufgrund Immunstimulation bei Tieren, Erhöhen von CD-4 und CD-8 Zellzahlen in Tieren, Vergrößern des Mineralgehalts von Knochen bei Tieren, Vermeiden von Skelettanomalitäten bei Tieren und Herabsetzen des Cholesteringehalts in dem Blut von Tieren.

[0021] In anderen Ausführungsformen stellt die vorliegende Erfindung Verfahren zur Herstellung von t10,c12-CLA für gängige Samenöle bereit, einschließlich, doch nicht beschränkt auf Sonnenblumenöl, Färberdistelöl, Sojabohnenöl und Maisöl. In einigen Ausführungsformen wird ein gängiges Samenöl und ein Verfahren zur Behandlung des Samenöls bereitgestellt. In anderen Ausführungsformen ist das Öl unter Bedingungen behandelt, bei denen ein t10,c12-CLA enthaltendes Präparat erzeugt wird. In einigen Ausführungsformen ist die CLA wenigstens zu 80% t10,c12, in anderen Ausführungsformen ist die CLA wenigstens zu 90% t10,c12 und in noch anderen Ausführungsformen ist die CLA wenigstens zu 92% t10,c12. In weiteren Ausführungsformen wird eine Mischung aus Alkylestern von dem gängigen Samenöl gebildet. In noch anderen Ausführungsformen sind dann die Alkylester konjugiert. In einigen Ausführungsformen sind die konjugierten Alkylester in einem Lösemittel verdünnt und durch Temperaturabsenkung auf wenigstens etwa minus 56°C bis minus 57°C ausgefällt. In anderen Ausführungsformen werden die gesättigten Fettsäuren aus dem Präparat mittels Temperaturabsenkung auf ungefähr -30°C entfernt. In noch weiteren Ausführungsformen können die gesättigten Fettsäuren mittels Harnstoff-Fraktionierung entfernt werden. In anderen Ausführungsformen stellt die Erfindung die mit dem gerade beschriebenen Verfahren hergestellte t10,c12-CLA bereit.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0022] [Fig. 1](#) zeigt ein Diagramm einer logarithmischen Regressionsanalyse dreier separater Studien, die das Verhältnis von den 10,12- und 9,11-Isomeren von CLA mit der prozentualen Reduzierung von Rückenfett in Hausschweinen vergleichen.

[0023] [Fig. 2](#) zeigt ein Diagramm einer linearen Regressionsanalyse dreier separater Studien, die den Gesamtanteil des 10,12-Isomers von CLA im Futter von Hausschweinen mit der prozentualen Reduzierung von Rückenfett vergleichen.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

Definitionen:

[0024] Wie hierin verwendet, bezieht sich „konjugierte Linolsäure“ oder „CLA“ auf eine beliebige konjugierte Linolsäure oder freie Octadecadien-Fettsäure. Dieser Ausdruck soll sämtliche Stellungen- und geometrische bzw. Stereoisomere der Linolsäure mit zwei konjugierten Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen an einer beliebigen Stelle im Molekül umfassen. CLA unterscheidet sich von der gewöhnlichen Linolsäure darin, dass gewöhnliche Linolsäure Doppelbindungen an Kohlenstoffatomen 9 und 12 besitzt. Beispiele für CLA umfassen cis- und trans-Isomere („E/Z-Isomere“) der folgenden Stellungsisomere: 2,4-Octadecadiensäure, 4,6-Octadecadiensäure, 6,8-Octadecadiensäure, 7,9-Octadecadiensäure, 8,10-Octadecadiensäure, 9,11-Octadecadiensäure und 10,12-Octadecadiensäure, 11,13-Octadecadiensäure. Wie hierin verwendet, umfasst „CLA“ ein einziges Isomer, eine ausgewählte Mischung zweier oder mehrerer Isomere und eine nicht-ausgewählte Mischung aus Isomeren, die aus natürlichen Quellen erhalten sind, wie auch synthetische und halbsynthetische CLA.

[0025] Wie hierin verwendet, ist beabsichtigt, dass „Triglyceride“ von CLA CLA an jeder oder allen der drei Positionen im Triglycerid-Rückgrat enthalten. Dementsprechend kann ein Triglycerid, das eine CLA enthält, jedes beliebige Stellungen- und Stereoisomer von CLA umfassen.

[0026] Wie hierin verwendet, ist beabsichtigt, dass „Ester“ von CLA sämtliche Stellungen- und Stereoisomere von CLA umfassen, die über eine Esterbindung an einen Alkohol oder eine beliebige andere chemische Gruppe, einschließlich, doch nicht beschränkt auf physiologisch verträgliche, natürlich vorkommende Alkohole (z.B. Methanol, Ethanol, Propanol) gebunden sind. Deshalb kann ein Ester von CLA oder eine veresterte CLA irgendeines der Stellungen- und Stereoisomere von CLA umfassen.

[0027] Es ist beabsichtigt, dass „nicht-natürlich vorkommende Isomere“ von CLA c11,t13; t11,c13; t11,t13;

c11,c13; c8,t10; t8,c10; t8,t10; c8,c10 und trans-trans-Isomere der Octadecadiensäure umfassen, jedoch nicht darauf beschränkt sind, und nicht t10,c12 und c9,t11-Isomere der Octadecadiensäure umfassen. „Nicht-natürlich vorkommende Isomere“ können auch als „mindere“ bzw. „sekundäre Isomere“ von CLA bezeichnet sein, da diese Isomere im Allgemeinen in geringen Mengen produziert sind, wenn CLA mittels Alkaliisomerisierung synthetisiert ist.

[0028] „Lebensmittelfertigprodukt“ meint jedes abgepackte Lebensmittel, das für den menschlichen Verzehr zugelassen ist.

[0029] Wie hierin verwendet, bezeichnet „c“ eine chemische Bindung in cis-Orientierung, und „t“ bezieht sich auf eine chemische Bindung in trans-Orientierung. Falls ein Stellungsisomer von CLA ohne ein „c“ oder ein „t“ genannt ist, dann umfasst diese Bezeichnung alle vier möglichen Isomere. Zum Beispiel umfasst 10,12-Octadecadiensäure die c10,t12-; t10,c12-; t10,t12- und c10,c12-Octadecadiensäure, während t10,c12-Octadecadiensäure oder CLA sich exakt auf ein einziges Isomer bezieht.

[0030] Wie hierin verwendet, bezieht sich der Ausdruck „Öl“ auf eine frei fließende Flüssigkeit, die langkettige Fettsäuren (einschließlich CLA) oder andere langkettige Kohlenwasserstoffgruppen enthält. Diese langkettigen Fettsäuren umfassen die verschiedenen Isomeren von CLA, sind aber hierauf nicht beschränkt.

[0031] Wie hierin verwendet, bezieht sich der Ausdruck „physiologisch verträglicher Träger“ auf einen beliebigen Träger oder beliebiges Vehikel, der/das üblicherweise mit öligen Arzneimitteln verwendet wird. Derartige Träger oder Vehikel umfassen Öle, Stärke, Sucrose und Lactose, sind aber nicht darauf beschränkt.

[0032] Wie hierin verwendet, bezieht sich der Ausdruck „orales Darreichungsvehikel“ auf ein beliebiges Mittel zur oralen Darreichung eines Arzneimittels, einschließlich, aber hierauf nicht beschränkt, Kapseln, Pillen, Tabletten und Sirupe.

[0033] Wie hierin verwendet, bezieht sich der Ausdruck „Lebensmittelprodukt“ auf ein beliebiges Lebens- oder Futtermittel, das für den Verzehr durch Menschen, nicht wiederkäuende Tiere oder wiederkäuende Tiere geeignet ist. Das „Nahrungsmittelprodukt“ kann ein zubereitetes und abgepacktes Lebensmittel (z.B. Mayonnaise, Salatdressing, Brot oder Käse) oder ein Tierfutter (z.B. extrudiertes und pelletiertes Tierfutter oder gemischtes Rohfutter) sein. Verschiedene Verwendungen von CLA sind in der Patentliteratur und in der wissenschaftlichen Literatur gut belegt. Diese Verwendungen können in zwei allgemeine Kategorien eingeteilt sein. Die erste Kategorie ist die Verwendung von CLA in der Ernährung als Nahrungsergänzungsmittel. Die zweite Kategorie ist die therapeutische und pharmakologische Verwendung.

[0034] In U.S. Patent Nr. 5.554.646 (Cook et al.), das hierin durch Verweis aufgenommen ist, ist die Verwendung von CLA zur Reduzierung von Körperfett in Tieren offenbart. Bei diesem Verfahren wird eine sichere und wirksame Menge an CLA, die hinreichend ist, eine Reduzierung des Körpergewichts zu bewirken, an das Tier verfüttert. Mäuse, denen ein 0,5% CLA-haltiges Futter verfüttert wurde, besaßen einen Gesamtfettgehalt am Ende der Fütterung, der signifikant geringer war als der Fettgehalt von Kontrollmäusen, denen ein 0,5% Maisöl-haltiges Futter verfüttert wurde. Die exakt zu verabreichende CLA-Menge für eine Reduzierung des Körperfetts hängt von dem Tier, der eingesetzten CLA-Form und dem Verabreichungsweg ab. Die Menge liegt allgemein im Bereich von etwa 0,001 g/kg bis etwa 1 g/kg Körpergewicht des Tieres. Pharmazeutische Mengen liegen allgemein im Bereich von etwa 1.000 Parts per Million (ppm) bis etwa 10.000 ppm CLA der menschlichen Kost. Allerdings ist die obere Grenze der Menge, die eingesetzt werden soll, nicht kritisch, da CLA relativ nicht-toxisch ist. CLA für diese und andere Verwendungen kann in einer Vielfalt von Formen präpariert sein. Diese umfassen nicht-toxische Natrium- oder Kaliumsalze von CLA zusammen mit einem pharmazeutischen Verdünnungsmittel und aktiven Estern. CLA kann auch dem Tierfutter oder Lebensmittel direkt beigemischt sein, das von einem Menschen verzehrt werden soll, so dass CLA ungefähr 0,01% bis 2,0% oder mehr Gew.-% des Tierfutters oder Lebensmittels umfasst. Dieses Patent offenbart ebenfalls, dass eine Ergänzung eines Tierfutters mit CLA zum Schutz von Körperprotein in einem Tier und zur Zunahme von Muskelprotein in einem Tier dienen kann.

[0035] Eine andere der Ernährung dienende Verwendung von CLA ist in U.S. Patent Nr. 5.428.072 offenbart (Cook et al.), das hierin als Verweis aufgenommen ist. Dort ist gezeigt, dass die Verfütterung einer sicheren und wirksamen CLA-Menge an Tiere die Gewichtszunahme und Futtereffizienz im Tier verbessert. Gruppen von Hühnern, denen ein mit 0,5% CLA ergänztes Futter verfüttert wurde, zeigten eine gleiche Gewichtszunahme wie Kontrolltiere, denen 0,5% Linolsäure verfüttert wurde, obgleich die CLA-gefütterten Hühner weniger Futter konsumierten. Des weiteren zeigten Hühner, die mit 0,5% CLA gefüttert wurden und denen anschlie-

ßend Endotoxin injiziert wurde, eine Gewichtszunahme, während Hühner, die mit Kontrollfuttermitteln gefüttert wurden, entweder an Gewicht verloren oder sehr wenig an Gewicht zunahmen. Ähnliche Ergebnisse waren bei Ratten, denen ein 0,5% CLA haltiges Futter verfüttert wurde, und bei Kaninchen zu beobachten, denen entweder 0,5% oder 1% CLA verfüttert wurde. Richtlinien für CLA-Mengen, die im Futter verfüttert oder enthalten sein sollen, sind mit den im U.S. Patent Nr. 5.554.646 offenbarten Mengen identisch.

[0036] Studien haben außerdem gezeigt, dass CLA tatsächlich zur Reduzierung von Körpergewicht beim Menschen verwendet werden kann. In einer Doppelblindstudie, die von Erling Thom 1997 in Norwegen durchgeführt wurde, war die Nahrung von 20 gesunden Individuen entweder mit 3 g CLA-Mischung oder mit 3 g Placebo ergänzt. Die CLA-ernährte Gruppe erfuhr sowohl eine Abnahme des Körpergewichts als auch des Körperfettanteils, während die Placebo-ernährte Gruppe eine Zunahme des Körpergewichts und Körperfettanteils erfuhr. Die PCT-Veröffentlichung WO 97/46230 offenbart ein Verfahren zur Aufrechterhaltung eines bestehenden Levels an Körperfett und/oder Körpergewicht. Die Ansprüche dieses Patents beruhen auf einer unkontrollierten Einzelstudie, worin CLA von insgesamt 3 Individuen konsumiert wurde.

[0037] Weitere Patente über eine CLA-Verwendung haben sich auf die Rolle von CLA bei einer Immunantwort konzentriert. U.S. Patent Nr. 5.585.400 (Cook et al.), das hierin als Verweis aufgenommen ist, offenbart ein Verfahren zur Abschwächung allergischer Reaktionen bei Tieren, die von Typ I oder TgE-Hypersensibilität vermittelt sind, durch die Verabreichung einer CLA-haltigen Nahrung. Dieses Patent offenbart ebenfalls die Verabreichung von CLA in Konzentrationen von etwa 0,1 bis 1,0%, um die Zahlen von weißen Blutzellen zu erhalten. Bei den in diesem Patent offenbarten Untersuchungen wurde ein Meerschweinchen-Tracheen-Allergiemodell eingesetzt. Meerschweinchen wurden mit 0,25% CLA oder Kontrollfutter zwei Wochen gefüttert, dann mit Ovalbumin an Woche zwei und drei für eine Hyperimmunisierung immunisiert. Ein Superfusionsmodellsystem wurde verwendet, um zu bestimmen, ob eine Fütterung mit CLA irgendeine Wirkung auf die Allergen-induzierte Tracheenkontraktion haben würde. Tracheen von Meerschweinchen, die mit CLA gefüttert wurden, waren in dem Superfusionsystem stabiler als Tracheen von Meerschweinchen, die mit Kontrollfutter gefüttert waren. Wenn das Allergen über die Meerschweinchen-Tracheen infundiert war, wurde eine geringere Tracheenkontraktion im Gewebe von CLA-gefütterten Tieren beobachtet. Die Zahl weißer Blutzellen von Tieren, die mit CLA gefüttert waren, war im Vergleich zu Kontrolltieren erhöht; die CLA-gefütterten Tiere besaßen $3,5 \times 10^6 \pm 0,6$ weiße Blutzellen im Vergleich zu $2,4 \times 10^6 \pm 0,3$ weißen Blutzellen bei den Kontrolltieren.

[0038] Die Verwendung von CLA zur Wachstumverbesserung und Prävention von Anorexie und Gewichtsverlust aufgrund von Immunstimulation (z.B. Endotoxinexposition) und den nachteiligen Wirkungen katabolischer Hormone (z.B. IL-1) wurde in U.S. Patent Nr. 5.430.066 (Cook et al.) offenbart, das hierin als Verweis aufgenommen ist. Hühner, die mit einem 0,5% CLA-Futter gefüttert und anschließend durch eine Endotoxininjektion gefordert wurden, zeigten eine Gewichtszunahme, während Hühner, die mit einem Kontrollfutter gefüttert wurden, keine Gewichtszunahme nach einer Endotoxin-Exposition zeigten. Ähnliche Ergebnisse wurden mit Ratten erhalten, die mit einem 0,5% CLA-haltigen Futter gefüttert wurden, im Vergleich zu Tieren, die mit einem Kontrollfutter mit 0,5% Maisöl gefüttert wurden. Die offenbarten Präparate und Dosisbereiche waren mit jenen identisch, die im U.S. Patent Nr. 5.554.646 offenbart wurden.

[0039] Die Verfahren zur Behandlung von Tieren, um die CD-4- und CD-8-Levels aufrecht zu halten oder zu erhöhen und um die nachteiligen Wirkungen auf die Tiere, die durch die Produktion oder exogene Verabreichung von Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) oder von einem Virus entstehen, zu verhindern oder abzumildern, und die darin bestehen, den Tieren eine sichere und wirksame Menge an CLA zu verabreichen, wurden in U.S. Patent Nr. 5.674.901 (Cook et al.) offenbart, das hierin als Verweis aufgenommen ist. Mäuse wurden entweder mit einem Kontrollfutter oder 0,5% CLA gefüttert und anschließend mit TNF-Injektionen gefordert. CLA-gefütterte Mäuse verloren weniger Gewicht als die Kontrollmäuse. Ähnlich nahmen Hühner, die mit 0,5% CLA-Futter gefüttert wurden und nachfolgend mit einer Flügelstichinjektion mit lebendem abgeschwächtem Hühnerpockenvirus gefordert wurden, mehr an Gewicht zu als mit Kontrollfutter gefütterte Hühner. Mit 0,5% CLA-Futter gefütterte Hühner zeigten einen deutlich gesteigerten Anteil an CD-4 und CD-8-Zellen im Vergleich zu Hühnern, die ein Kontrollfutter erhielten.

[0040] Die Europäische Patentanmeldung 779.033 A1 (Lievence, et al.), die hierin als Verweis aufgenommen ist, offenbart die Verwendung von CLA für eine Verbesserung des Blutfettprofils. Zusammengefasst wurden Hamster mit einem Futter gefüttert, das CLA eingebaut in ein Triglycerid in Form einer Fettdistribution eingebaut bei einem Anteil von 1,5% an den Gesamtkalorien ihres Futters enthielt. CLA-gefütterte Hamster zeigten eine Abnahme bei Gesamtcholesterol, eine Abnahme bei HDL-Cholesterol und eine Abnahme bei LDL-Cholesterol.

[0041] Es ist ebenfalls gezeigt worden, dass CLA Knocheneinlagerungen beeinflusst, wie es in den PCT Veröffentlichungen WO 98/05318 (Cook, et al.) und WO 98/05319 (Cook, et al.) berichtet ist, die beide hierin als Verweise aufgenommen sind. Hühner, die mit einem Futter, das 0,1875%, 0,375% oder 0,75% des Futters enthielt, gefüttert waren, zeigten einen wesentlichen Rückgang bei Skelettanomalien im Vergleich zu Hühnern, die kein CLA in ihrem Futter erhielten.

[0042] Außerdem zeigten Hühner, die mit einem 0,5% CLA-haltigen Futter gefüttert wurden, eine Zunahme des Knochenmineralgehalts.

[0043] Weitere Patente beschreiben verschiedene CLA-Formulierungen. Die Europäische Patentanmeldung EP779033 A1 offenbart eine genießbare Fettdistribution, die 0,05 bis 20 Gew.-% konjugierte Linolsäure-Reste enthält. Darin wurde eine im Handel erhältliche Mischung freier Fettsäuren mit einem Linolsäuregehalt von 95,3% einer Alkaliisomerisierung mit NaOH in Ethylenglycol unterzogen. Die freien Fettsäuren wurden an Triglyceride durch Mischen mit 10 Teilen Palmöl und Lipase gebunden. Die Mischung wurde 48 Stunden bei 45°C gerührt und die Lipase und freien Fettsäuren entfernt. Siebzig Teile dieser Zusammensetzung und 29 Teile Wasser, 0,5 Teile Molkenproteinpulver, 0,1 Teile Salz und eine kleine Menge an Geschmacksstoff und Citronensäure (um einen pH von 4,5 zu erhalten) wurden vereinigt und verarbeitet, um eine Fettdistribution herzustellen.

[0044] Andere Nahrungsmittel, die eine sichere und wirksame Menge an CLA enthalten, sind in der PCT-Veröffentlichung WO 97/46118 (Cook et al.) offenbart, die hierin als Verweis aufgenommen ist. Darin ist ein flüssiges diätetisches Nahrungsmittel für eine parenterale Verabreichung an Menschen offenbart, das emulgierte Fettpartikel mit etwa 0,33-0,5 Mikrometer im Durchmesser enthält. Die Emulsion enthält 0,5 mg/g bis 10 mg/g CLA oder alternativ 0,3% bis 100% CLA bezogen auf das Nahrungsmittelfett oder 0,03 g bis 0,3 g CLA pro 100 Kalorienportion. Diese Anmeldung legt ebenfalls eine Kleinkind-Formel offen, die ähnliche Mengen an CLA zusammen mit 2,66 g Protein, 5,46 g Fett, 10,1 g Kohlenhydrate, 133 g Wasser und Vitamine und Mineralien in RDA-Mengen enthält. Ein weiteres Beispiel für ein rückstandsarmes flüssiges enterales diätetisches Produkt ist offen gelegt, das als ein proteinreicher Vitamin- und Mineralienzusatz zweckdienlich ist. Dieser Zusatz enthält CLA mit 0,05% bis etwa 5 Gew.-% des Produkts oder von 0,3% bis etwa 100% des enthaltenen Lipids oder etwa 0,03 bis 0,3 g CLA pro 100 Kalorien. Zusätzlich können 140 Kalorien einer repräsentativen Formel 7,5 g Eiweiß-Feststoffe, 0,1 g CLA, 27,3 g Kohlenhydrate wie Sucrose oder hydrolysierte Maisstärke, 1,9 g Wasser und Vitamine und Mineralien in RDA-Mengen enthalten.

[0045] In der vorliegenden Erfindung sind entweder mit 10,12-Isomer angereicherte Präparate oder mit 9,11-Isomer angereicherte Präparate bevorzugt für jede der oben beschriebenen Anwendungen verwendbar. Mit 9,11-Isomer angereicherte Präparate sind kommerziell von Matreya (State College, PA) erhältlich. CLA-Präparate, die mit dem t10,c12-Isomer angereichert sind, können vorzugsweise mit Hilfe der präparativen Gaschromatographie oder mit Hilfe des in Beispiel 4 gezeigten Präzipitationsverfahrens hergestellt sein.

[0046] Die Erfinder haben im Gegensatz zu der gegenwärtig weit verbreiteten wissenschaftlichen Meinung entdeckt, dass ein besonders aktives CLA-Isomer tatsächlich das t10,c12-Isomer von CLA sein kann. Gemäß der vorliegenden Erfindung wird das Verhältnis von 10,12- zu 9,11-Isomeren, am meisten bevorzugt das Verhältnis von t10,c12 zu c9,t11-Isomeren, das menschlichen Nahrungsergänzungsmitteln und Tiernahrung hinzugefügt wird, gesteuert, um gewünschte Ernährungs-, therapeutische und pharmakologische Effekte zu erzielen. Das Verhältnis von 10,12- zu 9,11-Isomeren, am meisten bevorzugt das Verhältnis von t10,c12- zu c9,t11-Isomeren, das verwendet wird, ist etwa größer als 1,2:1, am meisten bevorzugt zwischen etwa 1,2:1 und 3:1. Da CLA nicht toxisch ist, ist die obere Grenze des Verhältnisses der 10,12- zu 9,11-Isomere nicht von Bedeutung. Jedoch ist zu erwarten, dass das Überschreiten der 3:1-Verhältnisschwelle in einem vergleichsweise geringem zusätzlichen Nutzen resultieren wird, die Verabreichung von angereichertem 10,12-CLA wird jedoch in Niveaus, die den maximal beobachteten Effekt überschreiten, effizient bzw. wirksam sein.

[0047] Die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung werden vorzugsweise formuliert durch Kombinieren eines angereicherten Präparats des t10,c12-Isomers mit entweder einem angereicherten Präparat von 9,11-Isomer oder eines normalen CLA-Präparats, das durch Alkaliisomerisation hergestellt wurde. In jedem Fall wird das angereicherte Präparat der 10,12-Isomere hinzugesetzt, so dass das gewünschte Verhältnis von 10,12- zu 9,11-Isomeren erreicht wird. Die Isomerzusammensetzung der verschiedenen CLA-Präparate kann vorzugsweise mit Hilfe der Gaschromatographie bestätigt werden, wie es in der Technik bekannt ist.

[0048] Alternativ können die 10,12-Isomere als eine tägliche Ration in einem Vehikel mit einer Lipidkomponente bereitgestellt sein, die 0,01 bis 10 Gramm-Äquivalente der 10,12-Isomere, am bevorzugtesten 0,01 bis

10 Gramm-Äquivalente des t10,c12-Isomers, enthält oder umfasst. Gramm-Äquivalente bedeuten, dass die Gesamtmenge an bereitgestelltem 10,12-Isomer ungeachtet weiterer vorhandener Isomere zwischen 0,01 bis 10 g liegt. Die vorliegende Menge von 10,12-Isomer kann die Menge sein, die in einem 10,12- zu 9,11-Verhältnis von etwa größer als 1,2:1 resultiert. Wenn die 10,12-Isomere als Teil einer täglichen Ration bereitgestellt sind, kann die Aufnahme mit einer einzigen Dosis oder mehreren Dosen in der Nahrung oder in verschiedenen Nahrungsmittelprodukten erfolgen, die über den Tag konsumiert werden.

[0049] Die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können ebenfalls in Form eines Massenprodukts für den Verkauf im Handel sein. Das CLA-Massenprodukt enthält oder umfasst wenigstens 50 Prozent konjugierte Linolsäure-Isomere. Die Linolsäure-Isomere können dadurch charakterisiert sein, dass sie mehr als 90% einer Mischung von t10,c12- und c9,t11-Isomeren enthalten. Vorzugsweise werden diese Isomere in einem Verhältnis von größer als etwa 1,2:1 zu Gunsten von t10,c12 bereitgestellt, am meisten bevorzugt in einem Bereich von etwa 1,2:1 zu 3:1. Dieses Massenprodukt kann in Nahrungsmittelprodukten wie Tierfutter, menschlichen Diätzusätzen und menschlichen Lebensmittelprodukten verdünnt sein. Diese Produkte werden Zusammensetzungen sein, die Linolsäure-Isomere beinhalten oder umfassen, die dadurch charakterisiert sind, dass sie mehr als 90% einer Mischung von t10,c12- und c9,t11-Isomere enthalten. Vorzugsweise werden diese Isomere in einem Verhältnis von größer als etwa 1,2:1 zu Gunsten von t10,c12, am meisten bevorzugt in einem Bereich von etwa 1,2:1 zu 3:1 bereitgestellt.

[0050] Die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung werden eine Vielzahl von Anwendungen haben. Diese Anwendungen umfassen: die Reduzierung von Körperfett bei Tieren, Vergrößern der Muskelmasse bei Tieren, Vergrößern der Nahrungseffizienz bei Tieren, Reduzieren des Körpergewichts bei Menschen, Vermindern der allergischen Reaktionen bei Tieren, Vermeiden von Gewichtsverlust aufgrund von Immunstimulation bei Tieren, Erhöhen der CD-4 und CD-8 Zellanzahl bei Tieren, Vergrößern des Mineralgehalts von Knochen bei Tieren, Vermeiden von Skelettanomalitäten bei Tieren, und Herabsetzen des Betrags von Cholesterin im Blut von Tieren. In jedem Fall umfasst der Ausdruck Tier alle Säuger, einschließlich Menschen. Die für jede Anwendung eingesetzten bevorzugten Dosierungen und Verhältnisse der 10,12-Isomere, am bevorzugtesten des t10,c12-Isomers, sind dieselben wie die oben beschriebenen.

[0051] In einer bevorzugten Anwendungsform der vorliegenden Erfindung wird eine sichere und wirksame ernährungsmäßige oder therapeutische Menge an t10,c12-CLA einem Tier (einschließlich des Menschen) oral verabreicht, um das Körpergewicht oder -fett zu vermindern. In einigen Anwendungsformen ist die t10,c12-CLA wenigstens zu 80% rein, in anderen Anwendungsformen ist die t10,c12-CLA wenigstens zu 90% rein und in noch weiteren Anwendungsformen ist die t10,c12-CLA wenigstens zu 92% rein. t10,c12-CLA kann an fettleibige oder nicht fettleibige Menschen verabreicht sein. Weil t10,c12-CLA ein nicht-toxischer, natürlich vorkommender Nahrungsmittelbestandteil und kein Medikament ist, kann t10,c12-CLA als ein Teil der normalen Nahrung konsumiert sein und als ein Teil der tagtäglichen Ernährung für Menschen ohne Fettleibigkeit Verwendung finden. Eine ernährungsmäßig wirksame Menge ist diejenige t10,c12-CLA-Menge, die, wenn sie in gereinigter Form oder als Nahrungsergänzungsmittel aufgenommen ist, zu einer Reduzierung des Körpergewichts oder -fetts führt, ohne die normale Ernährung zu beeinträchtigen oder mit dieser zu interferieren. Dementsprechend führt eine Verabreichung einer ernährungsmäßig wirksamen Menge an t10,c12-CLA zu einer Gewichtsabnahme ohne geschmacklichen Verlust bei der Nahrung, die mit einer Verminderung der Nahrungsaufnahme verbunden ist. t10,c12-CLA kann auch zur Behandlung von Menschen mit einer geringen bis ausgeprägten klinischen Fettleibigkeit verwendet werden. Werden Menschen mit einer klinischen Fettleibigkeit behandelt, so wird eine therapeutisch wirksame Menge an t10,c12-CLA verabreicht. Eine therapeutisch wirksame Menge ist diejenige Menge, die eine Reduzierung des Gewichts oder Körperfetts einer klinisch fettleibigen Person bewirkt. In der vorliegenden Erfindung können etwa 0,1 bis 15 g CLA pro Tag verabreicht sein, bevorzugt etwa 0,1 bis 5 g pro Tag verabreicht sein und am bevorzugtesten etwa 1,8 g pro Tag verabreicht sein. Im Allgemeinen ist die verabreichte CLA-Menge nicht entscheidend, sofern sie hinreichend ernährungsmäßig oder therapeutisch wirksam ist. Die CLA-Mengen, die als ernährungsmäßig oder therapeutisch wirksam erachtet werden, sind diejenigen Mengen, die zu einem messbaren Gewichts- oder Fettverlust führen, wenn sie über einen vierwöchigen oder längeren Zeitraum verabreicht werden.

[0052] Es ist anzunehmen, dass es gewisse Schwankungen in der Wirksamkeit aufgrund von Unterschieden zwischen den Individuen bei Parametern gibt, wie beispielsweise Körpergewicht, Grundumsatz, körperlicher Aktivität und anderen Ernährungsaspekten. Das Individuum sollte mit einer bevorzugten 1,8 g Dosis in den ersten beiden Wochen beginnen und dann, falls keine Gewichtsabnahme erfolgt, die CLA-Dosis stufenweise auf bis zu 10-15 g pro Tag erhöhen.

[0053] Die vorliegende Erfindung befasst sich ebenfalls mit der Verwendung von Derivaten des mit Isomeren

angereicherten CLA-Präparats. Zum Beispiel kann die CLA frei oder über Esterbindungen gebunden oder in Form eines Öls, das mit Isomeren angereicherte CLA-Triglyceride enthält, bereitgestellt werden, wie es in Beispiel 5 beschrieben ist. In diesen Anwendungsformen können die Triglyceride teilweise oder vollständig aus Isomer-angereicherter CLA zusammengesetzt sein, die an das Glycerol-Rückgrat gebunden sind. Die Isomer-angereicherte CLA kann auch als ein Methylester oder Ethylester bereitgestellt werden, wie es in den Beispielen beschrieben ist. Außerdem kann die Isomer-angereicherte CLA in Form eines nicht-toxischen Salzes, wie ein Kalium- oder Natriumsalz (z.B. ein Salz, das durch Reaktion chemisch äquivalenter Mengen an freien Fettsäuren mit einem Alkalihydroxid bei einem pH von etwa 8 bis 9 gebildet wird), vorliegen.

[0054] In einigen bevorzugten Anwendungsformen erfolgt die Verabreichung oral. Die Isomer-angereicherte CLA kann mit geeigneten Trägern wie Stärke, Sucrose oder Lactose in Tabletten, Pillen, Dragees, Kapseln, Lösungen, Flüssigkeiten, Aufschlämmungen, Suspensionen und Emulsionen formuliert sein. Die Isomer-angereicherte CLA kann als wässrige Lösung, ölige Lösung oder in beliebig anderen oben diskutierten Formen bereitgestellt sein. Die Tablette oder Kapsel der vorliegenden Erfindung kann mit einer Magensaft resistenten Beschichtung versehen sein, die sich bei einem pH von etwa 6,0 bis 7,0 auflöst. Eine geeignete Magensaftresistente Beschichtung, die sich im Dünndarm, aber nicht im Magen auflöst, ist Celluloseacetatphthalat. In einer bevorzugten Formulierung ist die Isomer-angereicherte CLA als weiche Gelatine kapseln bereitgestellt. Die Isomer-angereicherte CLA kann auch über einen von mehreren anderen Pfaden bereitgestellt sein, einschließlich, jedoch nicht beschränkt auf intravenöse, intramuskuläre, intraarterielle, intramedulläre, intrathekale, intraventrikuläre, transdermale, subkutane, intraperitoneale, intranasale, enterale, topische, sublinguale oder rektale Weise. Weitere Einzelheiten über Verfahren zur Formulierung und zur Verabreichung können der neuesten Ausgabe von Remington's Pharmaceutical Sciences (Maack Publishing Co., Easton, PA) entnommen werden.

[0055] Die Isomer-angereicherte CLA kann auch als eine Ergänzung in verschiedenen zubereiteten Lebensmittelprodukten und Getränken bereitgestellt werden. Im Sinne dieser Anmeldung bedeutet ein zubereitetes Lebensmittelprodukt jedes natürliche, verarbeitete Diät- oder Nichtdiät-Lebensmittelprodukt, dem Isomer-angereicherte CLA zugefügt worden ist. Die Isomer-angereicherte CLA kann in Form freier Fettsäuren oder als ein Öl zugefügt sein, das partielle oder vollständige Triglyceride von Isomer-angereicherter CLA enthält. Deshalb kann Isomer-angereicherte CLA direkt in verschiedene zubereitete Nahrungsmittelprodukte eingebaut sein, einschließlich, jedoch nicht darauf beschränkt, Diätgetränke, Diätiegel, Ergänzungsmittel, zubereitete eingefrorene Mahlzeiten, Süßigkeiten, Imbissprodukte (z.B. Chips), zubereitete Fleischprodukte, Milch, Käse, Joghurt und beliebige andere fett- oder ölhaltige Produkte.

[0056] CLA ist auch oxidationsempfindlich. Deshalb ist es erwünscht, Isomer-angereicherte CLA für den menschlichen Gebrauch mit geeigneten Antioxidantien wie Lecithin, Tocopherolen, Ascorbat, Ascorbylpalmitat oder Gewürzextrakten wie Rosmarinextrakt abzapacken.

[0057] Gegenwärtig ist der größte Teil der CLA mit einem alkalischen Isomerisierungsverfahren hergestellt. Ein Öl, das eine große Menge an Linolsäure wie Sonnenblumenöl, Nachtkerzenöl oder Färberdistelöl enthält, wird unter inertem Stickstoff mit Kaliumhydroxid und einem Lösemittel wie Propylenglycol bei etwa 180°C etwa 2,5 Stunden umgesetzt. Das Reaktionsprodukt wird angesäuert und einige Male mit saurem Wasser gewaschen und schließlich unter Vakuum getrocknet. Eine vollständige Beschreibung der CLA-Produktion im Labormaßstab mit Hilfe der alkalischen Isomerisierung ist dem U.S. Patent Nr. 5.554.646 zu entnehmen, das hierin als Verweis aufgenommen ist. CLA kann auch mit Hilfe eines kontinuierlichen alkalischen Isomerisierungsfließverfahrens hergestellt werden, wie im U.S. Patent Nr. 4.164.505 beschrieben, das hierin als Verweis aufgenommen ist. Das mit diesen Verfahren gewonnene Reaktionsprodukt ist eine Mischung aus CLA, Linolsäure und anderen Fettsäuren, die im Ausgangsöl gefunden werden. Im Allgemeinen ist die Menge an CLA, die von der alkalischen Isomerisierung von Sonnenblumenöl stammt, etwa 60% des Gesamtprodukts an freien Fettsäuren und enthält ungefähr gleiche Mengen an c9,t11- und t10,c12-Isomeren.

[0058] Ein weiteres Verfahren zur Herstellung eines aus primär cis-9, trans-10-CLA bestehenden Präparats ist in U.S. Patent Nr. 5.674.901 offen gelegt, das hierin als Verweis aufgenommen ist. In diesem Verfahren ist das die Linolsäure enthaltende Öl mit dem Mikroorganismus *Butyrivibrio fibrisolvens* inkubiert. *B. fibrisolvens* enthält eine Δ^{12} -cis, Δ^{11} -Isomerase, die Linolsäure in cis-9, trans-11 CLA umwandelt.

BEISPIELE

Beispiel 1:

[0059] Es wurden drei verschiedene Studien durchgeführt, bei denen die Beziehung zwischen CLA-Gehalt im

Futter und die Menge an Rücken fett in Schweinen untersucht wurde. In einer Studie, die von der Iowa State University durchgeführt wurde und von der bei den Midwest Animal Science Meetings berichtet wurde, berichtet R. L. Thiel et al, dass Schweine, denen CLA verfüttert wurde, eine Reduzierung des Rücken fetts erfuhren. Zusammengefasst wurden in acht Wiederholungsversuchen fünf Borge aus einem Geschwisterwurf mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von 26,3 kg in einzelne Koben zufällig verteilt. Die Schweine wurden durchschnittlich 93 Tage gefüttert und besaßen ein durchschnittliches Schlachtgewicht von 116 kg. Die mit 0,5% CLA-Futter gefütterte Gruppe erfuhr eine Abnahme des Rücken fetts um 10,3%. Obwohl nicht ursprünglich veröffentlicht, lag das Verhältnis der 10,12- zu 9,11-CLA-Isomere der im Futter verwendeten CLA bei 1,05:1.

[0060] In einer anderen Untersuchung, die von Wissenschaftlern an der Kansas State University durchgeführt und von der bei den Midwest Animal Science Meetings berichtet wurde, wurden 36 gekreuzte Borge mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von 83 lbs. mit einem Futter gefüttert, das 0,50% CLA enthielt. Das durchschnittliche Endgewicht lag bei ungefähr 230 lbs. Die Borge, denen CLA-haltiges Futter verfüttert wurde, erfuhren eine Abnahme des Rücken fetts um 7,2%. Das Verhältnis der 10,12- zu 9,11-CLA-Isomere der in diesem Versuch eingesetzten CLA war 0,487:1.

[0061] In einer weiteren Studie, die bis jetzt unveröffentlicht ist, wurden 24 Borge mit einem Anfangsgewicht von 26 kg mit einem 0,48% CLA-haltigem Futter oder einem Kontrollfutter gefüttert. Die Schweine wurden bis zu einem Endgewicht von 118 kg gefüttert. Mit CLA gefütterte Schweine erfuhren eine Abnahme des Rücken fetts um 13,7%. Das Verhältnis der 10,12 zu 9,11-CLA-Isomere war in diesem Versuch 1,16:1.

[0062] Das Verhältnis der 10,12- zu 9,11-Isomere von CLA, die in allen Studien eingesetzt wurden, wurde gegen die prozentuale Reduzierung des Rücken fetts aufgetragen und mittels logarithmischer Regression analysiert. Die Ergebnisse sind in [Fig. 1](#) dargestellt. Diese Ergebnisse zeigen, dass, wenn das Verhältnis der 10,12 zu 9,11-CLA-Isomere größer wird, die prozentuale Reduzierung des Rücken fetts ebenfalls zunimmt. Deshalb sind CLA-Präparate mit einem 10,12 zu 9,11 Verhältnis von höher als etwa 1,2:1 erwünscht.

[0063] Die Gesamtmenge an 10,12-Isomeren im Futter kann ebenfalls die Einlagerung von Rücken fett beeinflussen. Der Prozentsatz an 10,12-Isomeren in den Futtermitteln wurde gegen die prozentuale Reduzierung des Rücken fetts aufgetragen und mittels linearer Regression analysiert. Die Ergebnisse sind in [Fig. 2](#) dargestellt. Die Ergebnisse zeigen, dass, wenn die Gesamtmenge an 10,12-Isomeren im Futter zunimmt, das Rücken fett reduziert wird. Diese beobachtete Wirkung ist nicht so groß wie beim Isomerenverhältnis. Allerdings stimmen diese Ergebnisse mit den Verhältnis-Ergebnissen überein. Die zugrunde liegenden Studien machten keine Unterschiede zwischen den Isomeren. Es ist möglich, dass die Mengen und Verhältnisse der 9,11 und anderer vorhandener Isomere jeden Effekt maskierten, der mit der Erhöhung des Anteils der 10,12-Isomere im Futter in Beziehung stand. Wird ein CLA-Präparat, das mit 10,12-Isomeren angereichert war, verwendet, so wird erwartet, dass die Ergebnisse mit den Verhältnis-Ergebnissen vergleichbar sind.

Beispiel 2:

[0064] Die wissenschaftliche Literatur weist darauf hin, dass entweder die biologisch aktiven CLA-Isomere nicht identifiziert worden sind oder dass c9,t11-CLA das biologisch aktive Isomer ist. Basierend auf den Ergebnissen von Beispiel 1 glauben die Forscher, dass das t10,c12-Isomer ein aktives Isomer ist. Deshalb wird die Wirkung der Verfütterung unterschiedlicher CLA-Verhältnisse und CLA-Mengen an Mäuse untersucht, um zu zeigen, dass das t10,c12-Isomer ein biologisch aktives Isomer ist und dass das Verhältnis von t10,c12 zu c9,t11 zur Herbeiführung erwünschter biologischer Wirkungen beeinflusst werden kann.

[0065] Der Versuch wurde mit 84 ICR-Mäusen durchgeführt, die von Harlan Sprague Dawley (Madison, WI) erhalten waren. Die Futtermittel wurden aus dem Basisfutter, Zucker, Maisöl und einem Isomer oder einer Mischung aus Isomeren von konjugierter Linolsäure gemischt. Jede Behandlung umfasste 2 Käfige mit 3 Mäusen. Futter und Wasser erhielten die Mäuse ad libitum. Der Futterverbrauch wurde täglich kontrolliert und die Mäuse wurden jeden zweiten Tag gewogen, wenn die Streu gewechselt wurde. Nach drei Wochen Verfütterung des Futters wurden die Mäuse mit CO₂ getötet und das Körpergewicht festgehalten. Die Mäuse wurden dann seziiert und die Fettpolster gewogen. Die Mäuse wurden auch auf ihr Gesamtkörperfett untersucht. Die Mäuse wurden gefriergetrocknet und zerkleinert. Doppelproben wurden mittels Grobanalyse (Etherextraktion, Veraschung, Kjeldahl und Feuchteanteil) untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1

Behandlung 9,11:10,12	Gewichtszunahme (g)	Futtermittelverbrauch 0-3 Wochen (g)	Futterkonversion 0-3 Wochen	% Fett
0,0:0,0	9,88	85,75	8,75	13,995
0,0:0,1	9,38	87,67	9,34	8,806
0,0:0,2	8,88	81,72	9,73	6,439
0,0:0,4	9,35	83,27	8,97	3,003
0,1:0,0	9,77	86,58	8,87	9,880
0,2:0,0	11,38	92,83	7,02	10,346
0,4:0,0	11,55	88,62	7,86	13,403
0,1:0,1	10,49	92,38	8,89	9,560
0,1:0,2	8,17	82,98	10,28	7,306
0,2:0,0	11,38	92,83	7,02	10,346
0,2:0,1	11,23	89,43	8,49	7,922
0,2:0,2	8,75	79,82	9,15	7,115
0,2:0,4	10,23	88,20	8,64	3,088
0,4:0,0	11,55	88,62	7,86	13,403
0,4:0,2	9,50	85,27	8,98	7,508
0,4:0,4	9,97	81,57	8,19	0,476

[0066] Mäuse, denen ausschließlich c9,t11-CLA verfüttert wurde, zeigten eine lineare Zunahme des Wachstums (16%), wenn kein t10,c12 vorhanden war. Das Gegenteil erfolgte mit dem t10,c12-Isomer, wobei sich eine Wachstumsverringerung um 10% ergab. Folglich erhöhte c9,t11 auch den Verbrauch um 8 bei einem Verhältnis von 0,2%:0% Diese Daten zeigen ebenfalls, dass erhöhte Mengen des t10,c12-Isomers im Futter eine Reduzierung des Körperfetts bewirkt. Verglichen mit Kontrollmäusen, die keine CLA im Futter erhielten, hatten Mäuse, denen ausschließlich t10,c12-CLA verfüttert wurde, weniger Körperfett und zeigten ein vermindertes Wachstum. Im Gegensatz dazu zeigten Mäuse, denen ausschließlich c9,t11-CLA verfüttert wurde, ein erhöhtes Wachstum, erhöhte Gewichtszunahme und erhöhte Futterkonversion. Wurde Mäusen sowohl t10,c12- als auch c9,t11-CLA verfüttert, so nahm das Körperfett mit steigendem t10,c12 ab. Es wurde festgestellt, dass das optimale Verhältnis für eine Verbesserung von Wachstum, Futterkonversion und Reduzierung von Fett bei etwa ungefähr 2:1 c9,t11:t10,c12 liegt. Diese Daten weisen darauf hin, dass die verschiedenen CLA-Isomere verschiedene biologische Wirkungen besitzen.

Beispiel 3:

[0067] Ein mit dem 10,12-Isomer angereichertes CLA-Präparat wurde mittels Gaschromatographie im präparativen Maßstab hergestellt. Das resultierende Produkt wurde gaschromatographisch analysiert. Neuere Beschreibungen gaschromatographischer Verfahren siehe bei Christie et al., JAOCS 74(11): 1231 (1997), Christie et al., Lipids 33(2): 217-21 (1998), Sehat et al., Lipids 33(2): 217-21 und Marcel S.F. Lie Ken Jie und J. Mustafa, Lipids 32 (10): 1019-34 (1997). Die vorangehenden Quellen sind hierin als Verweis aufgenommen. Die gaschromatographischen Bedingungen waren folgendermaßen:

System: Perkin-Elmer Auto System

Injektor: Splitless bei 240°C

Detektor: Flammenionisationsdetektor bei 280°C

Träger: Helium

Säule: WCOT Fused Silica 0,25 mm X100M, CP-SL 88 für FAME, DF 0,2

Ofenprogramm: 80°C (0 min) Anstieg auf 220°C mit 10°C pro min und 10 min bei 220°C halten

[0068] Alle Ergebnisse sind als prozentualer Anteil der Peakfläche ausgedrückt. Die Ergebnisse der Analyse waren:

Isomer	Fläche (%)
C16:0	2,01
C18:0	0,57
C18:1	0,26
c9,t11	1,61
t10,c12	92,75
t9,t11; t10,t12	1,16
nicht identifiziert	1,64
Gesamt	100,0

Beispiel 4:

[0069] t10,c12-CLA kann in größeren Mengen mit einem alternativen Verfahren hergestellt werden. Vollständig raffiniertes Sonnenblumenöl (ersatzweise Färberdistelöl) wird als Rohstoff verwendet. Ethylester werden durch Zugabe reinen Ethanols im Überschuss, das 1 Natriumethylat als Katalysator enthält, zum Öl gebildet. Die Mischung wird unter Rühren 30 min auf 60°C erhitzt und darf sich dabei auftrennen. Die untere Schicht wird abgezogen, und die obere Schicht wird mit leicht saurem Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

[0070] Die Ethylestermischung wird dann mit Hilfe der Hochvakuumdestillation bei 160°C und 10⁻² mbar Druck gereinigt und der Rückstand wird verworfen. Die Konjugation erfolgt durch Zugabe von 0,5-1% Ethanol und 0,5-1% Kaliumethylat zum Ethylester und 1 Stunde Rühren der Mischung bei 120°C. Die Reaktion wird durch Zugabe verdünnter Citronensäure gestoppt. Das Öl wird dann gewaschen und getrocknet.

[0071] Der konjugierte Ethylester wird dann in Aceton verdünnt und auf -30°C gekühlt und filtriert, um den Großteil der gesättigten Fettsäuren zu entfernen. Das Filtrat wird dann weiter auf -56 bis -57°C gekühlt, um den t10,c12-Ethylester zu fällen. Der Ethylester wird durch Entfernen des Acetons vom Niederschlag durch Anlegen eines Vakuums bei leichter Erwärmung erhalten. Der so erhaltene t10,c12-Ethylester besitzt wenigstens etwa 90% Reinheit. Falls eine höhere Reinheit erwünscht ist, kann weiteres gesättigtes Fett aus dem Ethylester vor der Konjugation entfernt werden. Dies kann durch Harnstoff-Fraktionierung erfolgen. Das resultierende Produkt besteht zu wenigstens etwa 97% aus t10,c12 nach der letzten Fällung.

[0072] Freie Fettsäuren werden aus den Ethylestern durch Verseifung und anschließende Neutralisation hergestellt. Zur Verseifung werden 10% Wasser, das Ethanol für eine Verbesserung der Löslichkeit enthält, und 100% Überschuss an NaOH zu den Alkylestern für eine Seifenbildung gegeben. Die Reaktion wird bei 70°C durchgeführt. Dann wird die Seife mit Wasser verdünnt und HCl zugegeben, um die gesamte Mischung während intensiven Rührens anzusäuern. Die freien Fettsäuren trennen sich ab und bilden eine obere Schicht und werden mit verdünnter Citronensäure gewaschen und zum Schluss getrocknet. Die Ergebnisse wurden, wie oben beschrieben, gaschromatographisch analysiert. Die Ergebnisse mit der Harnstoff-Fraktionierung waren:

Isomer	Fläche (%)
c9,t11	1,80
t10,c12	97,49
t9,t11; t10,t12	0,71
Gesamt	100,0

[0073] Die Ergebnisse ohne Harnstoff-Fraktionierung waren:

Isomer	Fläche (%)
C16:0	1,75
C18:2,c9,c12	0,16
C18:1,c9	2,22
c9,t11	6,36
t10,c12	88,84
t9,t11;t10,t12	0,23
c9,c11;c10,c12	0,15
nicht identifiziert	1,64
Gesamt	100,0

Beispiel 5:

[0074] CLA-Triacylglycerole können mit Hilfe einer direkten Veresterung hergestellt werden. Immobilisierte *Candida antarctica*-Lipase (1,25 g) wird zu einer Mischung aus Glycerol (1,22 g 13,3 mmol) und Isomer-angereicherter (entweder mit t10,c12 oder c9,t11 angereichert) CLA als freie Fettsäure (MG 280,3 g/mol; 11,6 g, 41,5 mmol) gegeben. Die Mischung wird auf einer warmen Platte eines Magnetrührers bei 65°C unter einem stetigen Vakuum von 0,01-0,5 Torr vorsichtig gerührt. Der während des Reaktionablaufs gebildete Wasserdampf wird kontinuierlich in mit Flüssigstickstoff gekühlten Fallen kondensiert. Nach 48 h wird die Reaktion abgebrochen, n-Hexan zugegeben und das Enzym mittels Filtration abgetrennt. Die organische Phase wird mit alkalischer wässriger Natriumcarbonat-Lösung behandelt, um überschüssige freie Fettsäuren zu entfernen (sofern erforderlich). Das organische Lösungsmittel (gegebenenfalls nach Trocknen über wasserfreiem Magnesiumsulfat) wird in vacuo auf einem Rotationsverdampfer mit anschließender Hochvakuumbehandlung entfernt, um das praktisch reine Produkt als leicht gelbliches Öl zu erhalten. Werden stöchiometrische Mengen freier Fettsäuren verwendet, so wird eine Titration mit standardisiertem Natriumhydroxid angewendet, um den Gehalt an freien Fettsäuren des Reaktionsrohprodukts zu bestimmen (weniger als 1% Gehalt an freien Fettsäuren, basierend auf der Anzahl von Mol der Estergruppen, was einem Einbau von wenigstens 99% entspricht, äquivalent zu einem Triglycerid-Gehalt von mindestens 97%). Das Rohprodukt wird direkt auf die HPLC aufgetragen, das mit 10% Diethylether in n-Hexan eluiert wird, um 100% reines Triglycerid als ein farbloses Öl zu liefern.

[0075] Um den Verlauf der Reaktion zu kontrollieren und weitere Einzelheiten über die Zusammensetzung der einzelnen Triglyceride während der Reaktion zu erhalten, werden Proben regelmäßig zu verschiedenen Reaktionsstadien gesammelt. Sie werden mittels HNMR-Spektroskopie analysiert und liefern einen guten Einblick in die Zusammensetzung der Mono-, Di- und Triglycerole während des Reaktionsverlaufs.

Beispiel 6:

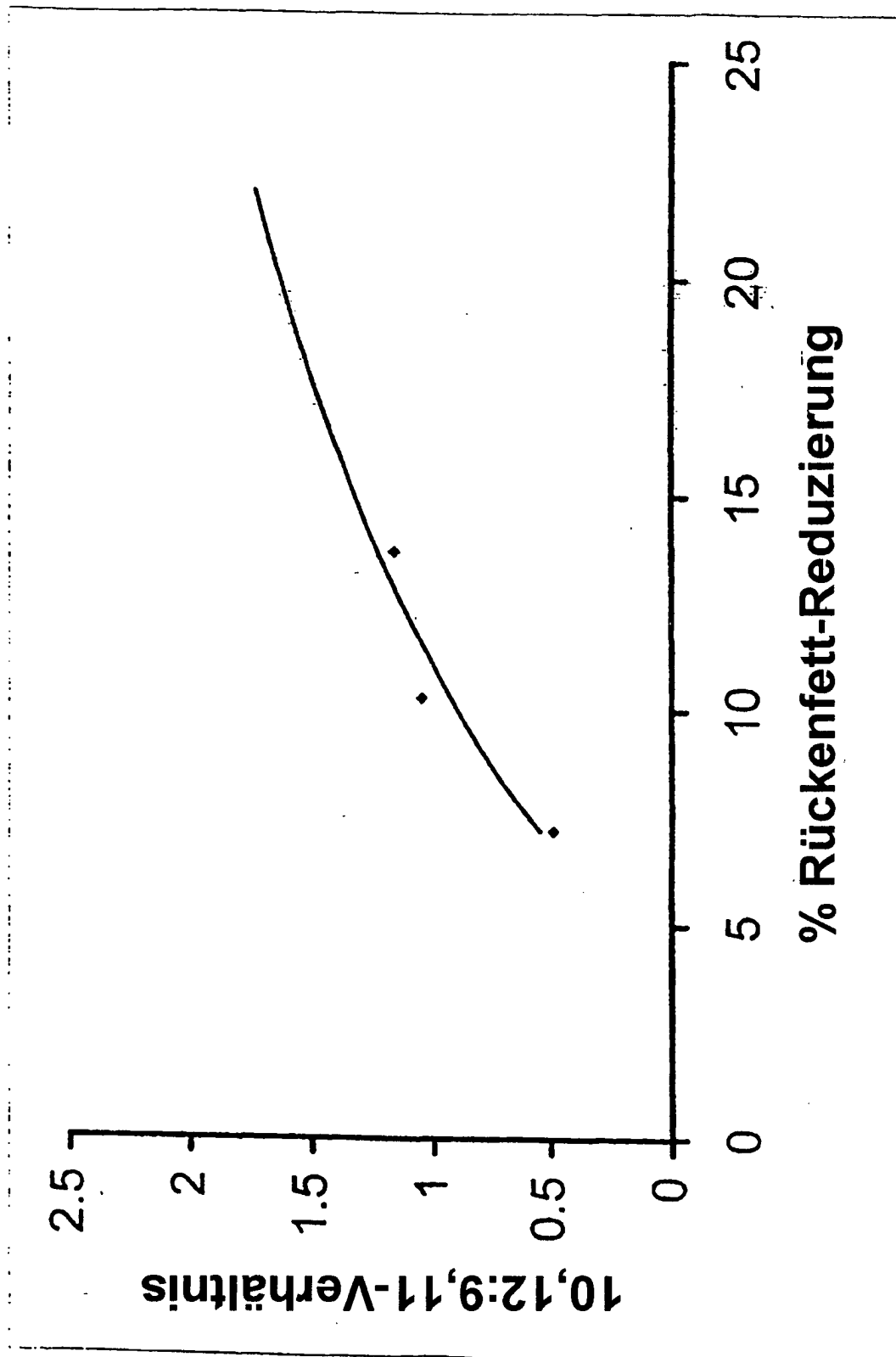
[0076] Dieses Beispiel beschreibt die Chargen-Produktion von konjugiertem Fettsäuremethylester (FAME) der Färberdistel im Großmaßstab. Die Produktion von konjugiertem FAME der Färberdistel kann in zwei Schritte aufgeteilt werden, nämlich die Methanolyse und die Konjugation. Für die Methanolyse wurden 6.000 kg Färberdistelöl in einen geschlossenen Reaktor überführt. Der Reaktor wurde mit Stickstoff mit Atmosphärendruck gespült, und 1150 Liter Methanol und 160 kg NaOCH₃ (30% Lösung) wurden zugegeben. Die Mischung wurde auf 65°C unter Rühren erhitzt und durfte bei 65°C für 2 Stunden reagieren. Die resultierende untere Schicht wurde abgeschöpft, während der Reaktor mit Stickstoffgas gespült wurde. 1000 Liter Wasser (40-50°C, in dem 50 kg Citronensäure-Monohydrat gelöst worden waren) wurden dann unter Rühren zugegeben. Die Schichten konnten sich trennen (ungefähr 60 min), und die untere Schicht wurde abgeschöpft, während der Reaktor mit Stickstoffgas gespült wurde. Das resultierende Färberdistel-FAME-Produkt wird bei 80°C unter Vakuum eine Stunde getrocknet. Das resultierende Färberdistel-FAME-Produkt kann, wie oben beschrieben, konjugiert und entweder mit t10,c12-CLA oder c9,t11-CLA angereichert werden.

Patentansprüche

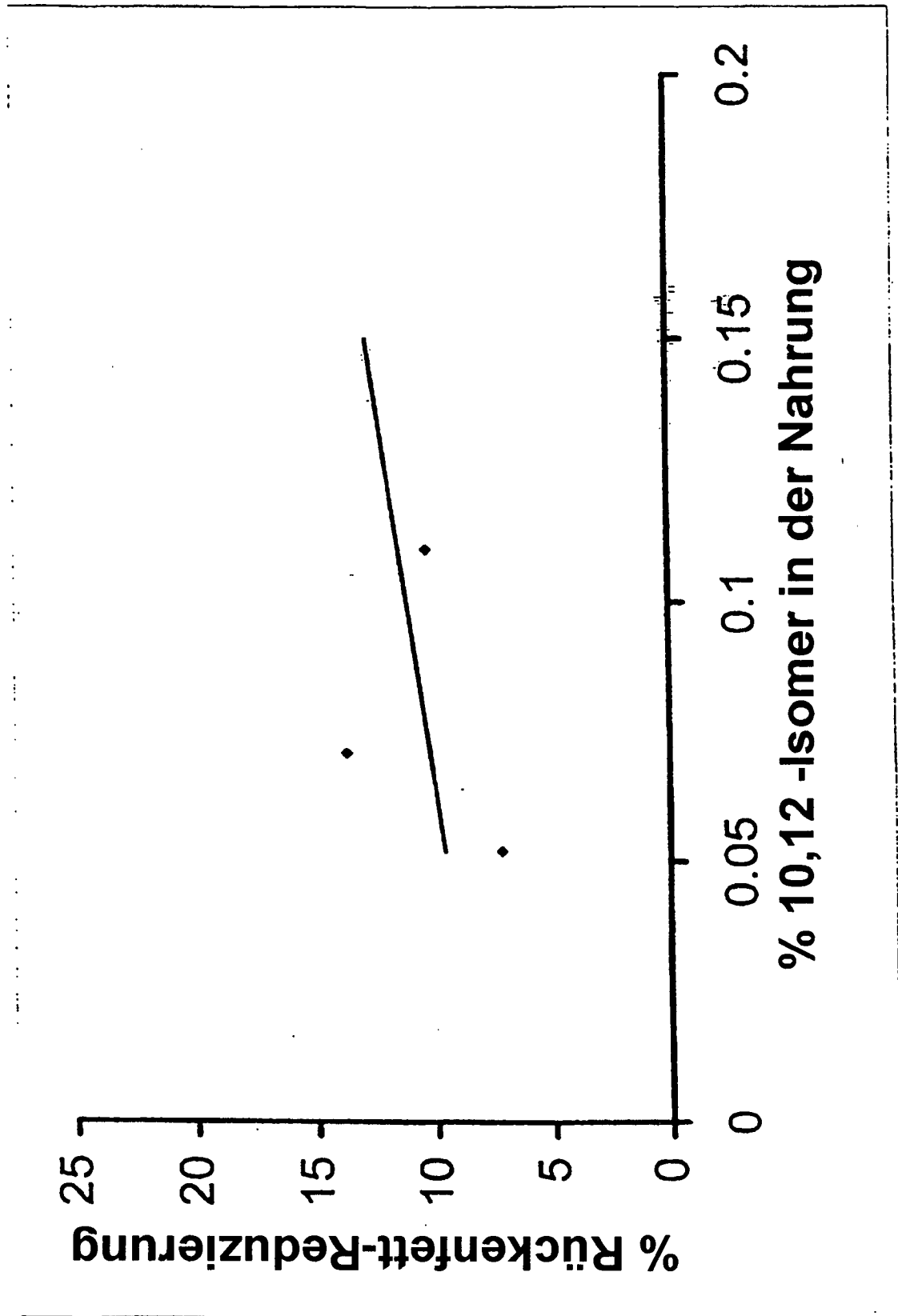
1. Konjugierte Linolsäurezusammensetzung, die mindestens 80% t10,c12-Octadecadiensäure enthält.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung mindestens 90% t10,c12-Octadecadiensäure enthält.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei die Zusammensetzung mindestens 92% t10,c12-Octadecadiensäure enthält.
4. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Zusammensetzung ungebundene Fettsäuren enthält.
5. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Zusammensetzung Alkylester von Fettsäuren enthält.
6. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Zusammensetzung Mono-, Di-, oder Triglyceride enthält.
7. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Verwendung als Medikament.

8. Verwendung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung eines Medikaments zur Reduzierung von Körperfett bei Tieren.
9. Verwendung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von Fettleibigkeit bei Menschen.
10. Verwendung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung eines Medikaments zur Zunahme an Muskelmasse bei Tieren.
11. Verwendung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung eines Medikaments zur Schwächung von allergischen Reaktionen bei Tieren.
12. Verwendung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung eines Medikaments zur Vorbeugung gegen Gewichtsverlust aufgrund einer Immunstimulation bei Tieren.
13. Verwendung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung eines Medikaments zur Erhöhung von CD-4 und CD-8 Zellzahlen bei Tieren.
14. Verwendung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung eines Medikaments zur Zunahme an Mineralgehalt von Knochen bei Tieren.
15. Verwendung der Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung eines Medikaments zur Vorbeugung gegen Skelettunregelmäßigkeiten bei Tieren.

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen



FIGUR 1



FIGUR 2