

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 700 791**

51 Int. Cl.:

<b>A23L 33/00</b>	(2006.01)
<b>A23L 33/155</b>	(2006.01)
<b>A23G 1/42</b>	(2006.01)
<b>A23G 1/32</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/01</b>	(2006.01)
<b>A61K 36/185</b>	(2006.01)
<b>A23L 33/105</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.11.2012 PCT/GB2012/052973**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **06.06.2013 WO13079967**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2012 E 12795607 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.09.2018 EP 2785195**

54 Título: **Productos alimenticios a base de cacao**

30 Prioridad:

**02.12.2011 GB 201120772**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**19.02.2019**

73 Titular/es:

**IP SCIENCE LIMITED (100.0%)  
2nd Floor The Platinum Building St. John's  
Innovation Park Cowley Road  
Cambridge CB5 0DS, GB**

72 Inventor/es:

**PETYAEV, IVAN**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 700 791 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Productos alimenticios a base de cacao

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a productos alimenticios a base de cacao, tales como el chocolate, los cuales tienen efectos beneficiosos en parámetros de metabolismo en personas que incluyen niveles de triglicéridos, colesterol y otros lípidos, transporte de oxígeno molecular y su metabolismo, saturación tisular de oxígeno y microcirculación, control de hipoxia/isquemia, así como marcadores de inflamación y daño oxidativo inflamatorio.

**Antecedentes de la invención**

Los productos alimenticios a base de cacao en grano, tales como el chocolate y otros productos que contienen cacao sólido, manteca de cacao, licor de cacao y/o sus derivados, están muy difundidos en la sociedad occidental. Aunque estos productos a base de cacao a menudo contienen flavonoles y flavonoides, que se han asociado a ciertos beneficios para la salud, también contienen altos niveles de manteca de cacao u otros ingredientes altos en grasa. Este alto contenido en grasa significa que los productos alimenticios a base de cacao son uno de los factores dietéticos responsables del crecimiento del síndrome metabólico, la diabetes II y la obesidad en la sociedad moderna.

Los productos alimenticios a base de cacao, tales como el chocolate, se han asociado a beneficios para la salud, tales como mejoras en la función vascular endotelial, que incluyen efectos positivos sobre la presión arterial y propiedades antioxidantes y antiinflamatorias [Keen et al Am J Clin. Nutr. 2005, 81 (supl.): 298S-303S]. Engler et al. describen que se ha descubierto recientemente que el cacao y el chocolate son fuentes derivadas de plantas ricas en flavonoides antioxidantes con propiedades cardiovasculares beneficiosas, que incluyen actividad antioxidante, vasodilatación, reducción de la presión arterial, inhibición de la actividad plaquetaria y disminución de la inflamación (Engler MB et al., Nutrition Reviews, Vol. 64, No. 3, 2006, 109-118).

Sin embargo, los efectos del chocolate en concentraciones de lípidos en sangre son dudosos o negativos. Se ha informado de que el consumo de 105 g de chocolate negro produce una leve reducción de las concentraciones de lípidos en sangre totales de 11 % [Cesar et al Clinical & Developmental Immunology, 2005; 12 (1) 11-17], pero este ensayo se realizó en un grupo excepcional de jóvenes deportistas de élite y los cambios de lípidos en sangre positivos pueden atribuirse a la mejora general de su rendimiento físico.

El metaanálisis de ocho ensayos clínicos sobre chocolate negro o cacao en polvo mostró una reducción observada en los niveles de colesterol de hasta 5,82 mg/dL, lo cual es estadísticamente insignificante [Lei et al. Am J Nutr 2010; 92; 218-25]. Además, la cantidad de dosis diarias administradas de fenoles de cacao en estos ensayos fue equivalente al consumo de 100 g o más de chocolate negro [Cheng et al Molecules 2009, 14: 200-209]. En otros estudios, cuando se consumía de 30 a 100 g diarios chocolate negro, no se observaron cambios en los lípidos en sangre [Taubert et al JAMA. 2007; 4, 298 (1): 49-60, Grassi et al Hypertension. 2005; 46 (2): 398-405].

Tokede et al. describen que la intervención con productos de chocolate negro/cacao redujo significativamente los niveles de lipoproteínas de baja densidad del suero, (LDL) y del colesterol total (TC). No se observaron efectos estadísticamente significativos para HDL y triglicéridos (Tokede et al., European Journal of Clinical Nutrition, 2011, 65, 879-886).

El nivel de triglicéridos en todos los estudios anteriores tuvo tendencias insignificantes o no cambió en absoluto.

No hay informes de ningún beneficio para la salud, incluidos los lípidos en sangre, derivados del consumo de las formas más comunes de chocolate, que incluyen el chocolate con leche y el chocolate blanco. Como se describe en McCance y Widdowson, "The Composition of foods", 1992 (Royal Society of Cambridge), el chocolate, dependiendo de su tipo, puede contener entre 40 (leche) y 75 (blanco) µg del carotenoide, caroteno.

Se sabe que el licopeno es un potente antioxidante. Se ha informado de su leve efecto reductor del colesterol en 13 estudios clínicos y fue de 7,55 + 6,15 mg/dL [Ried et: al Maturitas. 2011, 68 (4): 299-310]. Sin embargo, este efecto solo se observó para dosis diarias de 25 mg de licopeno o superiores. No hubo informes sobre el efecto del licopeno en triglicéridos elevados en humanos.

Aunque se considera que 25 mg de licopeno y por encima son seguros para ciertos períodos de administración, es muy superior al nivel diario que podría consumirse con una dieta rica en tomate o productos procesados de tomate (aproximadamente 6-10 mg). Se ha informado que el consumo diario de 6-10 mg de licopeno no tiene efecto sobre el colesterol u otros lípidos en sangre [Bose et al Singapore Med J 2007; 48 (5); 415-420; Upritchard et al Diabetes Care, 2000, 236: 733-735]. En Lee SJ et al., se informa de que la astaxantina, un carotenoide sin actividad de vitamina A, tiene propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. (Lee SJ et al., Mol Cells, 2003, 31; 16 (1): 97-105).

**Sumario de la invención**

La presente invención se basa en el hallazgo inesperado de que la combinación de un carotenoide y un producto de cacao en grano se puede usar para reducir el colesterol elevado, reducir los niveles de triglicéridos elevados y reducir el daño oxidativo inflamatorio. Habida cuenta del alto contenido de grasa y azúcar en el chocolate, tal hallazgo fue sumamente inesperado y ciertamente contradictorio.

En consecuencia, la invención proporciona un producto alimenticio que comprende uno o más productos de cacao en grano y un compuesto de carotenoide para usar en:

- (a) la reducción de niveles elevados de colesterol, LDL y/o triglicéridos en una persona, preferiblemente cuando la persona tiene niveles elevados de colesterol, LDL y/o triglicéridos;
- (b) la reducción de inflamación subclínica o clínica; y/o
- (c) la reducción de daño oxidativo inflamatorio;

en el que el producto alimenticio comprende entre 10 y 30 g de chocolate y entre 0,1 y 1 mg de compuesto de carotenoide por gramo de chocolate; producto alimenticio y en el que el producto alimenticio comprende una matriz homogénea que contiene chocolate y el compuesto de carotenoide.

También describimos un alimento y/o bebida y/o producto nutracéutico para usar en:

- (a) la reducción de los niveles elevados de colesterol, LDL y/o triglicéridos en sangre de una persona, preferiblemente cuando la persona tiene niveles elevados de colesterol, LDL y/o triglicéridos;
- (b) la reducción de la inflamación subclínica o clínica; la reducción de daño oxidativo inflamatorio; el aumento de transporte de oxígeno molecular de plasma, saturación de oxígeno de microcirculación y tejido, la reducción del daño (micro) hepático ya desarrollado y esteatosis hepática, hígado y otros órganos, que incluye la periferia, hipoxia o isquemia tisular; el aumento de la actividad antioxidante y/o la reducción o retraso de síntomas de envejecimiento en una persona;
- (c) la reducción de trigliceridemias y colesterolemias postprandiales, la reducción del tamaño de quilomicrones y el aumento de la tasa de su eliminación, la reducción de estrés oxidativo e inflamatorio postprandial, la reducción del daño postprandial u otros (micro) daños del hígado y esteatosis hepática, hígado y otros órganos, que incluyen hipoxia o isquemia tisular periférica, o el retraso de los síntomas mencionados anteriormente de grasa o el exceso o desequilibrio de ingesta alimenticia en una persona;
- (d) el aumento del transporte de oxígeno en un sujeto, preferiblemente cuando el sujeto tiene un trastorno respiratorio y/o daño pulmonar; y/o rendimiento físico o mental extenuante; y/o condiciones de pérdida de masa muscular; y/o
- (e) el adelgazamiento, reducción de peso o dietas.

También se describe un método para:

- (a) mejorar el aspecto y el rendimiento de una persona, comprendiendo el método administrar un producto de formulación nutracosmética o un producto alimenticio o bebida de la invención a la persona; y/o
- (b) reducir o retrasar signos de envejecimiento en una persona, preferiblemente signos visibles de envejecimiento, comprendiendo el método administrar un producto alimenticio de la invención a la persona.

También describimos un método para:

- (a) reducir los niveles elevados de colesterol, LDL y/o triglicéridos en sangre de una persona, comprendiendo el método administrar un producto alimenticio de la invención a una persona que lo necesite;
- (b) reducir la inflamación subclínica o clínica; reducir el daño oxidativo inflamatorio; incrementar el transporte de oxígeno molecular de plasma, saturación de oxígeno de microcirculación y tejido, reducir el daño (micro) hepático ya desarrollado y esteatosis hepática, hígado y otros órganos, que incluye la periferia, hipoxia o isquemia tisular; incrementar la actividad antioxidante y/o reducir o retrasar síntomas de envejecimiento en una persona; comprendiendo el método administrar un producto alimenticio de la invención a una persona que lo necesite;
- (c) reducir trigliceridemias y colesterolemias postprandiales, reducir el tamaño de quilomicrones e incrementar la tasa de su eliminación, reducir el estrés oxidativo e inflamatorio postprandial, reducir el daño postprandial u otros (micro) daños del hígado y esteatosis hepática, hígado y otros órganos, que incluyen hipoxia o isquemia tisular periférica, o el retraso de los síntomas mencionados anteriormente de grasa, o el exceso o desequilibrio de ingesta alimenticia en una persona; comprendiendo el método administrar un producto alimenticio de la invención a una persona que lo necesite;
- (d) proporcionar nutrición a una persona que comprende la administración de un producto alimenticio de la invención a una persona que lo necesite; y/o rendimiento físico o mental extenuante; y/o condiciones de pérdida de masa muscular; y/o
- (e) adelgazamiento, reducción de peso o dieta que comprende administrar un producto alimenticio de la invención.

También describimos una chocolatina y/o una bebida de chocolate que comprende un carotenoide, preferiblemente donde el carotenoide es un compuesto de licopeno.

**Descripción detallada de la invención**

5 Esta invención se refiere al hallazgo inesperado de que la incorporación de compuestos de carotenoide en productos alimenticios que contienen productos a base de cacao en grano, tales como cacao sólido, manteca de cacao, licor de cacao y/o sus derivados, hace que estos productos alimenticios ejerzan un efecto positivo en los niveles de triglicéridos, colesterol, LDL y otros parámetros metabólicos en personas, a pesar de ser ricos en grasas saturadas e insaturadas. Habida cuenta del alto contenido de grasa de productos alimenticios tales como el chocolate, el descubrimiento de que la combinación de un carotenoide y chocolate puede reducir esos parámetros fue inesperado y contradictorio.

15 Se describe un producto alimenticio que comprende uno o más productos de cacao en grano y un compuesto de carotenoide. Normalmente, el compuesto de carotenoide es un compuesto de carotenoide aislado.

20 El producto alimenticio puede comprender una matriz homogénea que contiene los productos de cacao en grano y el compuesto de carotenoide. Por ejemplo, los productos de cacao en grano y el compuesto de carotenoide se pueden mezclar juntos en una matriz de chocolate o manteca de cacao.

25 Un producto de cacao en grano es un extracto, fracción o aislado de cacao en grano (es decir, granos del árbol de cacao (*Theobroma cacao*)). Son bien conocidos en la técnica productos de cacao en grano adecuados e incluyen cacao sólido, licor de cacao y/o manteca de cacao. Por ejemplo, un producto alimenticio puede comprender uno o más de cacao sólido, licor de cacao y/o manteca de cacao.

30 En algunos casos, se pueden emplear semillas de cacao o fragmentos de este, licor de chocolate, cacao sólido parcial y totalmente desgrasado (por ejemplo, cacao en polvo), extracto de cacao o una fracción de este.

35 El cacao sólido (también conocido como polvo de cacao) es un extracto bajo en grasa de cacao en grano, que contiene flavanoles, flavonoides, cafeína y teobromina. El cacao sólido se puede producir retirando el componente graso (manteca de cacao) del cacao en grano y moliendo el material restante, excluyendo la cáscara, hasta obtener un polvo utilizando técnicas que son bien conocidas en la técnica, tal como el proceso Broma. En algunas realizaciones, el polvo de cacao se puede tratar con una sustancia alcalina tal como el carbonato de potasio para reducir la acidez y oscurecer el color (proceso Dutch).

40 La manteca de cacao es un extracto alto en grasa de cacao en grano que tiene un alto contenido de ácido esteárico, ácido palmítico y otras grasas saturadas. La manteca de cacao se puede producir a partir de los granos de cacao completos o molidos utilizando técnicas que son bien conocidas en la técnica.

45 El licor de cacao es un extracto de cacao en grano que contiene tanto cacao sólido como manteca de cacao. El licor de cacao se puede producir moliendo y fundiendo la semilla del cacao en grano (centro) a un estado líquido suave de acuerdo con técnicas que son bien conocidas en la técnica. El licor de chocolate no contiene grasa vegetal que no sea de cacao y también puede denominarse "chocolate", "chocolate sin azúcar", "chocolate para repostería" o "chocolate amargo".

50 En otros ejemplos, los productos de cacao en grano pueden incluir productos derivados o de fermentación de extractos de cacao en grano, aislados o fracciones.

55 Preferiblemente, el producto alimenticio comprende manteca de cacao; cacao sólido; o tanto manteca de cacao como cacao sólido.

60 Por ejemplo, el producto alimenticio puede contener al menos 1 % en peso, al menos 10 % en peso, al menos 15 % en peso, al menos 20 % en peso, al menos 25 % en peso o al menos 30 % o al menos 40 % en peso de manteca de cacao. El producto alimenticio puede contener una cantidad de manteca de cacao en un rango que comprende cualquiera de los dos valores anteriores como parámetros.

65 En algunos ejemplos, un producto alimenticio puede comprender además grasas distintas de cacao, tales como grasas vegetales o animales además de manteca de cacao.

En algunos ejemplos, un producto alimenticio puede estar desprovisto de manteca de cacao. Por ejemplo, un producto alimenticio puede contener grasa animal o vegetal no de cacao en lugar de manteca de cacao. Las grasas vegetales que no son de cacao pueden incluir aceites vegetales. Aceites vegetales adecuados, tales como aceite de palma, aceite soja, aceite de colza y aceite de oliva, son bien conocidos en la técnica.

El contenido de grasa total de un producto alimenticio descrito en este documento puede ser de al menos 10 % en peso seco, al menos 15 % en peso seco, al menos 20 % en peso seco, al menos 25 % en peso seco, al menos 30 %

en peso seco o al menos 35 % en peso seco o al menos 40 % en peso seco. El contenido de grasa puede estar, por ejemplo, en un rango que comprende cualquiera de dos valores como parámetros.

5 Adicional o alternativamente, el producto alimenticio puede contener al menos 5 % en peso, al menos 15 % en peso, al menos 20 % en peso, al menos 25 % en peso, al menos 30 % en peso seco o al menos 35 % en peso, o al menos 40 % en peso de cacao sólido seco. En algunos casos, la cantidad de cacao sólido puede ser de al menos 50 % en peso, al menos 60 % en peso, al menos 75 % en peso, al menos 80 % en peso, al menos 85 % en peso, al menos 90 % en peso o incluso de al menos 95 % en peso de cacao sólido seco, particularmente cuando el alimento es un chocolate negro. La cantidad de peso de cacao sólido seco puede estar, por ejemplo, en el rango que comprende  
10 cualquiera de los dos valores como parámetros.

En algunos ejemplos, un producto alimenticio puede carecer de cacao sólido.

15 Para evitar dudas, algunos aspectos de la invención proporcionan productos alimenticios que comprenden todas las combinaciones de los parámetros anteriores de cacao sólido, manteca de cacao y grasa total.

En algunas realizaciones, los productos de cacao en grano pueden formar una matriz de chocolate. El compuesto de carotenoide se puede incorporar a la matriz de chocolate mediante combinación o mezcla.

20 Cualquier producto alimenticio a base de cacao puede complementarse con un compuesto de carotenoide como se describe en el presente documento. Por ejemplo, el producto alimenticio puede ser un producto alimenticio, una bebida o un suplemento dietético o un producto nutracéutico.

25 Los productos alimenticios incluyen pan, harina, cereales, galletas, productos de pastelería, productos lácteos, tales como queso para untar, queso, crema y yogur, rellenos, pastas, salsas y mousses. Otros productos alimenticios adecuados son bien conocidos en la técnica.

30 En algunas realizaciones preferidas, los productos alimenticios pueden incluir productos de confitería, tales como chocolate. Realizaciones especialmente preferidas de la invención proporcionan chocolate que comprende un compuesto de carotenoide, como se describe en el presente documento.

El chocolate puede incluir chocolate negro, chocolate con leche o chocolate blanco.

35 En un caso preferido, el producto alimenticio de la invención puede ser una chocolatina, por ejemplo, una chocolatina de chocolate negro, simple o con leche que comprende un carotenoide, tal como cualquiera de los descritos en este documento. La cantidad de carotenoide en la chocolatina puede ser, por ejemplo, cualquiera de las cantidades de carotenoide indicadas aquí.

40 El chocolate negro, el chocolate con leche y el chocolate blanco están sujetos a normas de identidad definidas (por ejemplo, por la Food and Drug Administration (USA), EU and Food Standards Agency (UK); ver, por ejemplo, la EU directive 2000/36/EC; FDA 21 CFR Parte 163 Federal Register: 2002 67 193 62171-62178). En un caso, una composición descrita aquí puede ser una norma de identidad de chocolate (SOI), en otros es un chocolate no SOI.

45 Los ingredientes del chocolate negro, chocolate con leche, chocolate blanco u otras formas de chocolate son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, el chocolate negro comprende normalmente azúcar, manteca de cacao (por ejemplo, al menos 12 % en peso), cacao sólido (por ejemplo, al menos 35 % en peso) y opcionalmente vainilla. El contenido de grasa puede variar, aunque la media está entre 30 % y 35 %. El chocolate negro a veces se conoce como chocolate dulce o semidulce. El chocolate con leche puede comprender azúcar, manteca de cacao, cacao sólido, vainilla u otros aromas y leche, leche en polvo o crema. El chocolate con leche generalmente contiene al  
50 menos 20 % de cacao sólido y al menos 12 % de sólidos de leche en peso. El chocolate blanco puede comprender azúcar, manteca de cacao, leche o leche en polvo y vainilla y carece de cacao sólido. El chocolate blanco generalmente contiene al menos 20 % de manteca de cacao, 14 % de sólidos de leche totales y menos de 55 % de azúcar.

55 En un caso, el producto alimenticio de la invención puede ser de aproximadamente 100 g, 150 g, 200 g, 250 g, 300 g, 400 g o 500 g en peso o puede tener un peso en un rango con cualquiera de los dos valores como parámetros. En un caso preferido, el producto alimenticio puede ser una chocolatina de tal peso.

60 El producto alimenticio puede ser una barra de caramelo, por ejemplo, una barra de caramelo recubierta de chocolate. El producto alimenticio puede adoptar la forma de chocolates individuales, chocolates en bolsas o una caja de chocolates. El chocolate puede la forma de una figura. En un caso, el producto alimenticio es un huevo de Pascua o se puede proporcionar en forma de glaseado de chocolate o un pastel que comprende un carotenoide y chocolate. También se describe fruta o frutos secos recubiertos con un chocolate descrito aquí. También se describen dulces o caramelos recubiertos con un chocolate que se describe aquí.

65 También describimos un chocolate de la invención previsto en forma de una dosis de porción única, por ejemplo, en

cantidades de 10 a 30 g, así como un paquete de tales dosis de porción única. También se describe una chocolatina de la invención segmentada, por ejemplo, segmentada de manera que se pueda dividir en dosis de porción única.

El producto alimenticio de la invención puede ser, en otros casos, un pastel, una tarta de queso, un bocadillo horneado, un brownie, galleta o bizcocho, una barra de reemplazo de comida, un pastel de arroz, helado u otro pudín o postre. En algunos casos, se describen productos recubiertos con, o que comprenden, un chocolate descrito aquí. Los productos pueden, por ejemplo, comprender el chocolate en forma de virutas o en una región central.

Las bebidas pueden incluir cualquier bebida que comprenda productos de cacao en grano y pueden incluir cacao, chocolate para beber, batidos de leche y otras bebidas lácteas y no lácteas. Las bebidas pueden ser no alcohólicas o alcohólicas. La formulación de bebidas adecuada es bien conocida en la técnica. En un caso preferido, la bebida es un batido de chocolate. En otro caso, también se proporciona un polvo, gel o cubo para preparar como una bebida. También se describe una bebida de chocolate caliente, chocolate o cacao, así como una bebida trago de chocolate/cacao que comprende un producto de la invención.

Los suplementos dietéticos o productos nutracéuticos pueden presentarse en cualquier forma adecuada para su administración oral (por ejemplo, por ingestión) y pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o comprimidos; como un polvo o gránulos; como una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite; tal como un bolo; un electuario; o una pasta.

También describimos un producto alimenticio destinado a personas que hacen dieta que es, o comprende, un producto alimenticio descrito aquí. La invención proporciona el uso de los productos descritos en el presente documento para adelgazar, hacer dieta o reducir peso. La invención también proporciona productos para diabéticos que comprenden, o consisten en, un producto alimenticio de la invención. En un caso, la invención proporciona un chocolate para diabéticos, en el que el chocolate es un chocolate de la invención.

En un caso preferido, un producto alimenticio de la invención puede proporcionarse con un envase y/o envoltorio. Tal envase/envoltorio puede indicar los beneficios de la invención y/o sugerir el consumo en o cerca de la hora de comer para un beneficio máximo. El envase/envoltorio puede indicar los beneficios del producto para adelgazar, disminuir el colesterol y/o los niveles de triglicéridos. En otro caso, el envase puede referirse a la capacidad del producto para mejorar el transporte de oxígeno. El envase puede consultarse para tratar o mejorar cualquiera de las condiciones mencionadas en este documento. El envase puede ser una bolsita, por ejemplo, cuando el producto se va a preparar como una bebida.

También describimos productos alimenticios dirigidos a deportistas. Por ejemplo, los productos se pueden usar para reducir peso en tales sujetos o para producir cualquiera de los otros beneficios destacados aquí para los productos descritos aquí. Los productos pueden envasarse o envolverse e incluyen una indicación de su capacidad para aumentar el transporte de oxígeno. Los productos descritos aquí se pueden usar para reducir el tiempo de recuperación. Los productos pueden ser utilizados por escaladores, particularmente aquellos que escalan en altura.

Además de los productos de cacao en grano, los productos alimenticios descritos en el presente documento comprenden un compuesto de carotenoide.

El compuesto de carotenoide se puede aislar en los productos de la invención. Un compuesto de carotenoide aislado está fuera del medio físico o el entorno en el que se produce en la naturaleza. Por ejemplo, un compuesto de carotenoide aislado puede estar libre o sustancialmente libre de su entorno natural, por ejemplo, no está contenido en el material vegetal natural al que está asociado de forma natural. Los compuestos de carotenoide aislados incluyen compuestos que se han aislado, concentrado, purificado o parcialmente purificado a partir de fuentes naturales, tales como plantas, y compuestos que se han producido sintéticamente.

El producto alimenticio proporcionará normalmente una cantidad eficaz de carotenoide, tal como licopeno. El producto alimenticio puede comprender de 0,0001 % a 1 %; 0,001 % a 1 %; o 0,01 % a 0,1 % en peso de compuesto de carotenoide. Por ejemplo, el producto alimenticio puede comprender de 0,001 a 10 mg de compuesto de carotenoide por un gramo de producto alimenticio, por ejemplo, de 0,01 a 10 mg por gramo o de 0,1 a 1 mg por un gramo de producto alimenticio. El producto de la invención proporcionará normalmente una cantidad eficaz del carotenoide, por ejemplo, una cantidad eficaz para alterar uno de los parámetros mencionados en el presente documento.

El producto alimenticio puede estar en una forma de dosis unitaria que permita el consumo de una dosis diaria controlada de carotenoide, preferiblemente licopeno. Por ejemplo, el producto alimenticio puede formularse para proporcionar una dosis diaria de 0,1 mg a 100 mg de licopeno, preferiblemente de 0,5 a 50 mg de licopeno. En algunos casos, un producto de la invención puede proporcionar aproximadamente 0,1 mg, 0,2 mg, 0,5 mg, 1 mg, 1,5 mg, 2 mg, 2,5 mg o más de carotenoide, tal como aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg de carotenoide. En algunos casos, la cantidad de carotenoide puede ser de aproximadamente 10, 15, 20 o 25 mg, o hasta esos niveles. Preferiblemente el carotenoide es licopeno. El producto puede comprender una cantidad de carotenoide que está en un rango entre cualquiera de los dos valores mencionados aquí como parámetros.

En un caso, el producto alimenticio o producto proporciona de 0,1 a 1,0 mg de carotenoide por gramo de producto alimenticio, por ejemplo, al menos 0,2, 0,3, 0,4 o 0,5 mg de carotenoide por gramo de producto alimenticio, en algunos casos, hasta 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 o 1,0 mg de carotenoide por gramo de producto. En un caso preferido, esos valores se emplean cuando el producto es chocolate y/o el carotenoide es licopeno, preferiblemente ambos. En otro caso, el nivel de producto alimenticio administrado es suficiente para reducir cualquiera de los marcadores mencionados en el presente documento, preferiblemente cerca, en o por debajo de niveles de línea de referencia para un control de salud o por debajo de la línea de referencia antes de la administración del producto.

En algunos casos, la relación de carotenoide a triglicéridos u otras moléculas de grasa en los productos de la invención puede ser de 1:1000 a 1:100,000, por ejemplo, de 1:2000 a 1:50,000 o de 1:5000 a 1:25,000.

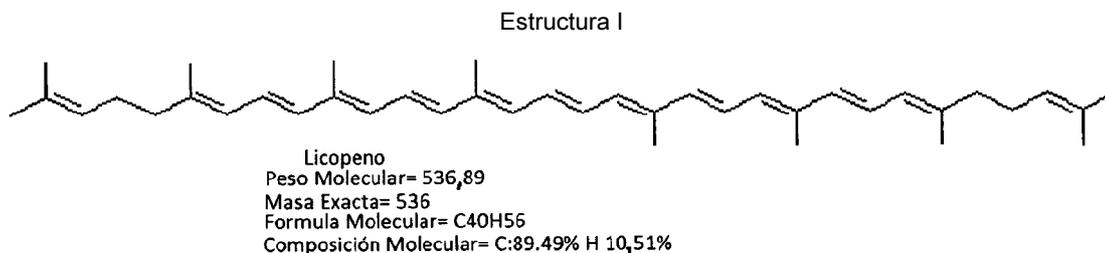
El carotenoide y el producto de cacao en grano pueden estar presentes en una cantidad sinérgica. Por ejemplo, pueden estar presentes cuando la combinación produce un efecto mayor en cualquiera de los parámetros mencionados aquí que individualmente cuando se proporciona en la misma cantidad. Por tanto, la invención también proporciona una combinación sinérgica de un carotenoide y un producto de cacao en grano. También se describe el uso de un carotenoide, tal como cualquiera de los mencionados en el presente documento, para tratar cualquiera de las afecciones mencionadas en este documento, donde al sujeto también se le administra chocolate, y también el uso de chocolate para tratar cualquiera de las afecciones mencionadas aquí donde al sujeto también se le administra un carotenoide. Normalmente, el carotenoide y el chocolate se administrarán juntos, por ejemplo, comiéndolos juntos o en un intervalo de tiempo de 5, 10, 15, 30, 45 o 60 minutos entre sí. Los dos pueden administrarse simultáneamente.

Los compuestos de carotenoide son tetraterpenoides que contienen cadenas largas de polieno. Los compuestos de carotenoide incluyen xantofilas tales como luteína, capsantina y zeaxantina, y carotenos, tales como compuestos de beta-caroteno, alfa-caroteno, ceto-caroteno y licopeno.

Los compuestos de licopeno pueden incluir licopeno, 1-HO-3', 4'-didehidrolopeno, 3,1' - (HO)2-gamma-caroteno, 1,1'-(HO) 2-3, 4, 3', 4'-tetrahydrolycopeno, 1,1'-(HO) 2-3, 4-didehydrolycopeno.

En realizaciones preferidas, el compuesto de carotenoide es licopeno.

El licopeno es un carotenoide C<sub>40</sub> insaturado de cadena abierta de estructura I (Chemical Abstracts Service Registry Number 502-65-8),



El licopeno se produce naturalmente en plantas tales como tomates, guayaba, rosa mosqueta, sandía y pomelo rosado y, por ejemplo, pueden emplearse tales fuentes de licopeno.

El licopeno para usar como se describe en el presente documento puede comprender uno o más isómeros diferentes. Por ejemplo, el licopeno puede incluir isómeros cis-licopeno, isómeros trans-licopeno y mezclas de los isómeros cis y trans. El licopeno puede comprender al menos el 10 %, al menos el 20 %, al menos el 30 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o al menos el 95 % de (Z) isómeros (todo-E) isómeros o cis-isómeros, tales como 5-cis o 9-cis o 13-cis-isómeros, los cuales tienen una biodisponibilidad mejorada en relación con los isómeros trans. Los isómeros trans pueden isomerizarse en formas cis *in vivo*, o durante el almacenamiento y procesamiento.

Los compuestos de carotenoide, tales como el licopeno, para su uso como se describe en el presente documento pueden ser naturales, es decir, obtenidos de una fuente natural, por ejemplo, extraídos de una planta, tal como un tomate o un melón. En un caso, la oleoresina, particularmente la oleoresina de tomate puede emplearse en la invención. En la técnica se conocen varios métodos para extraer, concentrar y/o purificar carotenoides de plantas. Por ejemplo, se puede emplear la extracción de solvente usando etanol, DMSO, acetato de etilo, hexano, acetona, soja u otro aceite vegetal, o aceites no vegetales.

Los compuestos de carotenoide, tales como el licopeno, para su uso tal como se describe en el presente documento pueden ser sintéticos, es decir, producidos por medios artificiales, por ejemplo, por síntesis química. En la técnica se conocen varios métodos para síntesis química de licopeno y otros carotenoides. Por ejemplo, puede emplearse una

síntesis química de tres etapas basada en el esquema de reacción de olefinación de Wittig estándar para la síntesis de carotenoides, en la que se producen una solución orgánica de metanosulfonato de fosfonio C<sub>15</sub> en diclorometano (DCM) y una solución orgánica de dialdehído C<sub>10</sub> en tolueno y las dos soluciones orgánicas se combinan gradualmente con solución de metóxido de sodio y se someten a una reacción de condensación para formar licopeno crudo. El licopeno crudo puede purificarse después utilizando técnicas de rutina, por ejemplo, añadiendo ácido acético glacial y agua desionizada a la mezcla, agitando vigorosamente, dejando que las fases acuosa y orgánica se separen y extrayendo la fase orgánica que contiene DCM y licopeno crudo con agua. El metanol se añade a la fase orgánica y el DCM se elimina por destilación a presión reducida. La solución de licopeno metanólico crudo se calienta luego y se enfría a una suspensión cristalina que se filtra y se lava con metanol. Los cristales de licopeno pueden luego recristalizarse y secarse con nitrógeno calentado. Los carotenoides sintéticos, tales como el licopeno, también están disponibles en proveedores comerciales (por ejemplo, BASF Corp, NJ EE.UU.).

Los compuestos de carotenoide sintéticos, tales como el licopeno, pueden comprender una proporción incrementada de isómeros cis con respecto a los compuestos de carotenoide naturales. Por ejemplo, el licopeno sintético puede ser hasta 25 % 5-cis, 1 % 9-cis, 1 % 13-cis y 3 % de otros isómeros cis, mientras que el licopeno producido por tomates puede ser de 3-5 % 5-cis, 0-1 % 9-cis, 1 % 13-cis y <1 % de otros isómeros cis. Dado que el cis-licopeno tiene una biodisponibilidad aumentada en relación con el trans-licopeno, en algunas realizaciones se prefiere el licopeno sintético.

Los derivados de carotenoides, según se describen anteriormente, pueden producirse por síntesis química análoga a la síntesis descrita anteriormente o por modificación química de carotenoides naturales extraídos de material vegetal.

Un producto alimenticio, tal como se describe en el presente documento, puede contener un solo compuesto de carotenoide (por ejemplo, licopeno) o más de un compuesto de carotenoide (por ejemplo, licopeno y betacaroteno). Normalmente, cada compuesto de carotenoide estará presente en un rango de diferentes formas isoméricas.

El producto alimenticio se puede producir mezclando o combinando los productos de cacao en grano, por ejemplo, manteca de cacao y cacao sólido, y opcionalmente uno o más ingredientes y el compuesto de carotenoide en condiciones que permiten que el compuesto de carotenoide se incorpore en la matriz del producto alimenticio.

Otros ingredientes pueden incluir azúcar, vainilla, leche, leche en polvo, agentes emulsionantes, tales como lecitina de soja o polirricinoleato de poliglicerol (PGPR; E476), péptidos de suero de leche o de patata y/o proteínas, productos de soja, tales como proteínas de soja, extractos de soja y/o isoflavonas de soja, aceites vegetales o grasas animales, productos a base de frutos secos, tales como polvos de frutos seco y extracto de fruto seco, almidón y polisacáridos.

Los productos a base de cacao en grano pueden estar en forma seca, líquida, en aerosol, congelada o fundida para combinar o mezclar con el compuesto de carotenoide. Por ejemplo, el chocolate para mezclar puede estar en forma líquida (es decir, chocolate fundido).

En algunos ejemplos preferidos, los productos a base de cacao en grano y el compuesto de carotenoide en formas que se pueden mezclar y que tienen las mismas viscosidades o similares.

Métodos adecuados para combinar y mezclar, que incluyen la mezcla mecánica, son bien conocidos en la técnica.

En un caso, se añade un carotenoide mientras se prepara el chocolate o se funde el chocolate y se añade el carotenoide. El chocolate se puede añadir a un molde para proporcionar productos con una forma y/o tamaño particular.

También describimos un método para producir un producto alimenticio, tal como un producto alimenticio como el descrito aquí, que comprende añadir un carotenoide durante la producción del producto alimenticio. Por ejemplo, el carotenoide se puede añadir durante la preparación de chocolate.

Los productos de la invención también pueden contener otros ingredientes tales como aromatizantes, emulsionantes, colorantes y/o conservantes. En algunos casos, los productos pueden comprender frutos secos, particularmente cuando el producto es un chocolate, tales como nueces, avellanas, almendras o nueces de Brasil.

Se muestra que los productos alimenticios según se describen en el presente documento, tienen un efecto inesperado en los niveles de colesterol en sangre, lipoproteínas de baja densidad, triglicéridos y/u otros lípidos o partículas de lípidos, tales como partículas de LDL, en una persona. Dado que el chocolate se percibe como un alimento alto en grasa, esto fue inesperado.

Los aspectos de la invención proporcionan un producto alimenticio como se describe anteriormente para su uso en la reducción de los niveles de colesterol, lipoproteínas de baja densidad, triglicéridos y/u otros lípidos o partículas de lípidos, tales como partículas de LDL, en una persona, y un método de reducción de los niveles de colesterol en

sangre, lipoproteínas de baja densidad, triglicéridos y/u otros lípidos o partículas de lípidos, tales como partículas de LDL en una persona que comprende administrar un producto alimenticio descrito anteriormente a la persona.

5 Otro aspecto de la invención proporciona el uso de un compuesto de carotenoide y uno o más productos de cacao en grano, como se describe anteriormente, en la fabricación de un producto alimenticio para usar en la reducción de los niveles de colesterol en sangre, lipoproteínas de baja densidad, triglicéridos y/u otros lípidos o partículas de lípidos, tales como partículas de LDL, en una persona.

10 Esto puede ser útil en el tratamiento o prevención de trastornos cardiovasculares y cerebrovasculares o síndrome metabólico, presión arterial alta, prediabetes y diabetes de tipo II, sobrepeso (por ejemplo, IMC > 25), obesidad (por ejemplo, índice de masa corporal > 30) e hipercolesterolemia. La invención se puede emplear, por ejemplo, con cualquiera de esos sujetos. Los productos de la invención se pueden usar en dietas. También se describe un método para hacer dieta que comprende consumir un producto de la invención como parte de la dieta.

15 Una persona es preferiblemente un humano, aunque su uso en animales también es posible. La persona puede tener niveles de colesterol en sangre, LDL y/o triglicéridos normales o niveles de colesterol en sangre, LDL y/o triglicéridos elevados. En algunos casos, el sujeto puede tener un colesterol sérico total de más de 200 mg/dL, por ejemplo, más de 210 mg/dL. En algunos casos, un sujeto puede tener adicional o alternativamente niveles de triglicéridos superiores a 150 mg/dL. En algunos casos, el sujeto puede estar aparentemente sano, pero puede identificarse como que tiene niveles elevados de colesterol y/o triglicéridos, en otros casos el sujeto puede tener antecedentes de enfermedad cardíaca y/o aterosclerosis. El sujeto puede tener sobrepeso y puede ser obeso. El sujeto puede ser uno que toma estatinas, aspirina y/o medicamentos para reducir la presión arterial. El sujeto puede estar a dieta.

20 25 Los métodos para medir los niveles de colesterol, LDL, triglicéridos y otros lípidos en una persona son bien conocidos en la técnica.

30 En algunas realizaciones, la persona puede padecer o estar en riesgo de padecer trastornos cardiovasculares o cerebrovasculares, tales como enfermedad coronaria, síndrome metabólico, hipertensión arterial, prediabetes y diabetes tipo II, sobrepeso (p. ej., IMC > 25) u obesidad (p. ej., IMC > 30). El sujeto puede haber tenido un ataque al corazón. El sujeto puede haber tenido un accidente cerebrovascular.

35 Los productos alimenticios, tal como se describen en este documento, también demuestran que reducen los niveles de marcadores de daño oxidativo inflamatorio en una persona. En algunos casos, el sujeto puede tener niveles elevados de daño oxidativo inflamatorio. Por ejemplo, puede tener  $\geq 20\text{-}39 \mu\text{M}$  MDA y/o al menos 0,25 a 0,30 u/ml de P<sub>x</sub>-1gG. Tales niveles pueden ser adicionales o alternativos a los niveles indicados anteriormente de colesterol y/o triglicéridos totales.

40 Los productos alimenticios pueden, por tanto, también ser útiles para reducir la inflamación; reducir el daño oxidativo antiinflamatorio; aumentar la actividad antioxidante y/o reducir o retrasar los síntomas del envejecimiento en una persona. La invención se puede utilizar para reducir los signos visibles de envejecimiento.

45 Pueden administrarse a la persona ejemplos de posibles dosis diarias de 0,1 mg a 100 mg de compuesto de carotenoide, tales como licopeno, preferiblemente de 0,5 a 50 mg. Se puede administrar cualquiera de las cantidades indicadas en el presente documento.

En algunos ejemplos, una persona adecuada puede ser una persona madura o anciana, por ejemplo, de al menos 50, 60, 65, 70, 75 o más años o tener una edad en el rango definido por cualquiera de esos dos valores.

50 Los productos alimenticios descritos en este documento también pueden ser útiles en proporcionar nutrición a una persona.

55 Por ejemplo, los productos alimenticios pueden ser útiles como productos de nutrición deportiva o para proporcionar nutrición a personas maduras o ancianas (por ejemplo, mayores de 50 años) o personas sometidas a control o reducción de masa corporal, es decir, para propósitos de "adelgazamiento".

60 En otros ejemplos, los productos alimenticios pueden ser útiles para proporcionar nutrición a personas que tienen que recuperarse o que se están recuperando de un estado clínico individual. Por ejemplo, los productos alimenticios descritos en el presente documento pueden ser útiles en la nutrición de una persona que se recupera de una lesión, operación o trauma; una persona que tiene que recuperarse o que se está recuperando de una quimioterapia o radioterapia; o una persona que tiene o está en riesgo de síndrome metabólico, obesidad, diabetes II, aterosclerosis y sus complicaciones clínicas.

65 El producto alimenticio descrito aquí se puede usar para ayudar a tratar la isquemia o hipoxia. El producto alimenticio puede administrarse, en algunos casos, después de que se haya cortado el flujo de sangre a un tejido u órgano particular. En un caso, el producto alimenticio se puede administrar a sujetos que han tenido un accidente

cerebrovascular.

Los productos alimenticios descritos en el presente documento, también pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de trastornos cardiovasculares y cerebrovasculares, hipertensión, síndrome metabólico, hipertensión, prediabetes y diabetes tipo II, sobrepeso (por ejemplo, índice de masa corporal > 25 ), obesidad (por ejemplo, IMC > 30) u otras afecciones médicas tales como anemia, reumatismo, artritis reumatoide, artritis no reumatoide, disfunciones de la próstata o los testículos, disfunciones eréctiles, pérdida de la libido, celulitis, sarcopenia y caquexia.

En algunos casos, el sujeto al que se le suministra el producto alimenticio descrito aquí puede que tenga una enfermedad autoinmune; una afección alérgica; hipertensión; aterosclerosis; patologías cardiovasculares, tales como enfermedad coronaria; patologías vasculares, tales como endocarditis, miocarditis, insuficiencia cardíaca, valvulopatía, arritmias, aterosclerosis, hipertensión, vasculitis, endarteritis, venas varicosas, endoflebitis, daño endotelial; patologías cerebrales; obesidad; diabetes tipo 2; cáncer, sarcopenia; disfunción metabólica; síndrome metabólico; celulitis y degradación de envejecimiento del tejido, gastritis; úlceras de estómago o duodeno; o artritis; o dermatitis, psoriasis, acné, ulceraciones cutáneas crónicas u otras afecciones de la piel relacionadas o no con la edad, incluidas quemaduras y heridas en la piel y otros tejidos; lesiones deportivas, traumatológicas, operación y otras lesiones; caquexia, efectos secundarios de quimioterapias y tratamiento con radiación o exposición a la radiación; el sujeto puede estar en riesgo de tal afección.

Debido a la capacidad del producto alimenticio descrito aquí para aumentar el transporte de oxígeno, el producto alimenticio también puede usarse para tratar afecciones en las que tal transporte incrementado de oxígeno puede ser beneficioso. Por ejemplo, un sujeto con un trastorno respiratorio, tal como enfisema, EPOC, fibrosis quística, asma o ARDS. El sujeto puede tener la función pulmonar reducida, por ejemplo, debido a daño pulmonar o cáncer de pulmón. En un caso, el sujeto puede ser fumador.

El producto alimenticio descrito aquí puede usarse para tratar insuficiencia de oxigenación de los tejidos, por ejemplo, debido a la reducción del suministro de sangre debido a la disfunción circulatoria o enfermedad circulatoria. El sujeto puede haber tenido una lesión, enfermedad o trastorno que causó una reducción en el flujo sanguíneo, por ejemplo, una consecuencia del flujo sanguíneo a un órgano y/o tejido que se redujo o cortó.

El producto alimenticio descrito aquí puede utilizarse para aumentar la oxigenación de tejido y tratar enfermedades circulatorias. En un caso, el trastorno circulatorio puede deberse a tumores/malformaciones traumáticos, compresivos, oclusivos y/o a reducción vasoespástica en la oxigenación. El sujeto puede tener aterosclerosis que produce una reducción de la oxigenación tisular o DVT. El sujeto puede ser uno con angina, tal como angina de pecho, síndrome coronario agudo o tener una infracción de miocardio. La invención también se puede usar para tratar a personas con inflamación del tejido reducido debido a afecciones o procesos inflamatorios en curso en el tejido, tales como cualquiera de los mencionados en el presente documento.

Dada la capacidad del producto alimenticio descrito aquí para reducir los marcadores inflamatorios, la invención también puede emplearse para ayudar a tratar trastornos inflamatorios o autoinmunes, por ejemplo, artritis, enfermedad inflamatoria del intestino y aterosclerosis.

Otro aspecto de la invención proporciona una formulación nutracosmética que comprende uno o más productos de cacao en grano y un compuesto de carotenoide.

Productos de cacao en grano y compuestos de carotenoide adecuados se describen con más detalle anteriormente.

Una formulación nutracosmética que comprende uno o más productos de cacao en grano y un compuesto de carotenoide como se define anteriormente, puede comprender además uno o más portadores, adyuvantes, excipientes, edulcorantes, diluyentes, rellenos, tampones, estabilizadores, conservantes, colorantes, lubricantes aceptables desde el punto de vista estético o nutricional, u otros materiales bien conocidos por los expertos en la técnica.

El término "nutracéuticamente aceptable" tal como se usa aquí se refiere a compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son de uso común o generalizado en alimentos y productos dietéticos y generalmente se consideran no tóxicos, por ejemplo, los compuestos pueden tener la designación US FDA "GRAS" (generalmente reconocida como segura) o un estatus de aditivo alimentario equivalente en otras jurisdicciones.

Las formulaciones nutracosméticas están generalmente destinadas a la administración oral y pueden formularse en consecuencia.

Las formulaciones nutracosméticas pueden ser útiles para mejorar el aspecto de una persona o para reducir, retrasar o enmascarar los signos visibles de envejecimiento en una persona.

La invención se puede administrar para tratar, mejorar, prevenir o reducir la gravedad de los síntomas en cualquiera

de las condiciones mencionadas en el presente documento. En un caso, la invención se administra profilácticamente para ayudar a prevenir la aparición de cualquiera de las afecciones mencionadas en este documento. La invención puede dar como resultado la reducción de cualquiera de los parámetros analizados en el presente documento, puede, por ejemplo, reducir el colesterol, los triglicéridos, el daño inflamatorio, el peso o la grasa corporal.

5 Varios aspectos y realizaciones adicionales de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica en vista de la presente descripción.

10 El término “y/o” cuando se usa aquí, debe tenerse en cuenta como una descripción específica de cada una de las dos características indicadas o componentes con o sin la otra. Por ejemplo, “A y/o B” debe tenerse en cuenta como una descripción específica de cada uno de (i) A, (ii) B y (iii) A y B, como si cada una se expusiera individualmente en este documento.

15 En los casos en que en el presente documento se utilizan los términos “comprende” o “que comprende”, la invención también puede proporcionar lo que se describe cuando “consiste esencialmente en” o “consiste en” los constituyentes indicados.

20 A menos que el contexto indique lo contrario, las descripciones y definiciones de las características expuestas anteriormente no se limitan a ningún aspecto o realización particular de la invención y se aplican igualmente a todos los aspectos y realizaciones que se describen.

Algunos aspectos y realizaciones de la invención se ilustrarán ahora a modo de ejemplo y con referencia a las tablas que se describen a continuación.

25 La tabla 1 muestra el efecto del licopeno en parámetros de lípidos y marcadores de IOD e inflamación en pacientes con CHD.

30 La tabla 1 muestra el efecto de 30 g de chocolate negro en parámetros de lípidos y marcadores de IOD e inflamación en pacientes con CHD.

La tabla 3 muestra el efecto de 30 g de L-chocolate en parámetros de lípidos y marcadores de IOD e inflamación en pacientes con CHD.

35 Los resultados presentados en las otras tablas se analizan en los ejemplos individuales a continuación.

## **EJEMPLOS**

### **Experimentos**

#### 40 *Chocolate reductor de lípidos (L-Chocolate)*

Se fundió chocolate negro disponible comercialmente (Green & Black's Dark Chocolate; 85 % de cacao) a 70 °C. El chocolate fundido se mezcló con oleorresina de tomate, que contenía 15 % de licopeno (Lyc-O-Mato), en la proporción de 1,57 mg de oleorresina a 1 g de chocolate. La mezcla se mezcló durante 10 minutos y luego se dividió en porciones diarias de 10 g o 30 g y se enfrió a temperatura ambiente.

Cada porción de chocolate de 10 g o 30 g contenía 47,1 mg de oleorresina de tomate o aproximadamente 7 mg de licopeno.

#### 50 *Muestras de control de chocolate*

Los procedimientos de fundido y mezcla se realizaron como se describe anteriormente utilizando el mismo chocolate negro disponible en el mercado, pero en lugar de oleorresina de tomate, se usó aceite de girasol (Flora®).

#### 55 *Licopeno*

Se predisolvieron 47,1 mg de oleorresina de tomate en etanol y se mezclaron con proteína WHEY como se describe en Richelle et al (2002) J Nutr 132 404-408, WO01/091588 y US2002 / 01072992. Luego la mezcla se colocó en cápsulas de gelatina.

60 Todos los productos se mantuvieron secos y frescos, protegidos de la luz.

### **Validación en ensayos clínicos**

#### 65 *Pacientes con CHD*

Se reclutaron 18 pacientes masculinos con CHD, de 47 a 69 años, para este estudio. Los criterios principales de

inclusión fueron:

- colesterol sérico total elevado por encima de 200 mg/dL y/o triglicéridos por encima de 150 mg/dL,
- ningún paciente fue tratado previamente con ninguna medicación de reducción de lípidos,
- condiciones clínicas estables y el régimen de medicamentos fue de al menos 3 meses.

Los criterios de inclusión secundarios fueron:

- marcadores sanguíneos positivos en daño oxidativo inflamatorio, IOD, > 20-30 µM MDA
- sangre positiva en un marcador inflamatorio anticuerpo, Px-IgG > 0.250-0.300 U/ml

Todos los pacientes se asignaron al azar y se dividieron en tres grupos iguales de 6 pacientes cada uno. Los dos grupos que recibieron chocolate fueron enmascarados; el grupo que recibió la preparación de licopeno fue etiquetado como abierto. El periodo de prueba fue de 4 semanas.

**Resultados**

Los resultados del ensayo en curso se presentan en las tablas 1 a 3 a continuación.

Se observó que después de dos semanas de administración de 7 mg de licopeno, no hubo cambios en ninguno de los pacientes en sus niveles de colesterol elevado, triglicéridos y marcadores de daño oxidativo o inflamación (tabla 1).

Se observaron resultados similares en el grupo en el que los pacientes tomaron 30 g de la chocolatina de control de chocolate negro (tabla 2).

Sin embargo, en el grupo de pacientes que tomaron 30 g de L-chocolate, se observó una reducción en la concentración tanto del colesterol total como de su fracción de LDL en todos los pacientes del grupo, incluso después de los primeros siete días del ensayo (tabla 3). La tendencia positiva en los niveles de triglicéridos también se detectó en 5 de cada 6 pacientes.

Además, el nivel elevado de transferasas en dos pacientes de este grupo también comenzó a disminuir, lo que indica un efecto positivo de L-chocolate en su estatus de daño hepático. Además, para la mayoría de los pacientes, la administración de L-chocolate estuvo acompañada por una reducción de los marcadores de daño oxidativo inflamatorio, lo que indica que este producto no solo tiene propiedades hipolipemiantes sino también antiinflamatorias.

Línea de referencia		Licopeno								
ID	Edad	IOD	Px-IgG	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
		µM MDA	U/ml	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
13	48	101	0,765	225	161	39	153	6,5	44	25
14	69	162	0,698	231	150	42	159	5,6	45	36
15	54	79	0,811	204	134	41	135	3,8	34	24
16	49	95	0,803	219	126	44	161	4,4	27	35
17	66	83	0,751	243	165	37	186	5,9	49	29
18	53	49	0,743	210	157	40	147	6,1	25	26
56,5		95	0,762	222	149	40,5	157	5,4	37,3	29,2

Semana 1										
ID	Edad	IOD	Px-IgG	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
		µM MDA	U/ml	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
13	48	99	0,823	224	160	39	153	6,4	47	31
14	69	158	0,746	231	152	42	160	5,7	46	33
15	54	85	0,809	205	137	40	134	4,9	36	29
16	49	94	0,867	217	130	43	160	3,6	31	34
17	66	81	0,851	241	164	38	185	5,1	44	33
18	53	57	0,839	209	159	40	149	6,1	34	29
96		96	0,823	221	150	40,3	157	5,3	39,7	31,5

40

ES 2 700 791 T3

**Semana 2**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px-IgG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
13	48	95	0,812	223	159	39	152	6,6	43	29
14	69	139	0,809	230	151	41	158	5,2	42	31
15	54	84	0,815	208	138	40	133	5,4	31	28
16	49	91	0,844	216	132	42	159	4,1	38	32
17	66	75	0,830	239	162	39	183	3,9	41	31
18	53	68	0,799	208	158	41	150	6	30	34
		<b>92</b>	<b>0,818</b>	<b>221</b>	<b>150</b>	<b>40,3</b>	<b>156</b>	<b>5,2</b>	<b>37,5</b>	<b>30,8</b>

**Semana 3**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px-IgG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
13	48	94	0,834	221	155	39	151	6,2	42	32
14	69	136	0,781	227	149	42	157	4,8	39	29
15	54	85	0,84	210	135	40	132	5,1	35	25
16	49	93	0,795	214	142	41	155	5	36	31
17	66	76	0,809	232	161	38	179	4,4	42	28
18	53	81	0,774	211	154	41	152	5,8	33	31
		<b>94</b>	<b>0,806</b>	<b>219</b>	<b>149</b>	<b>40,2</b>	<b>154</b>	<b>5,22</b>	<b>37,8</b>	<b>29,3</b>

Tabla 1

**Línea de referencia**

**Chocolate**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px-IgG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT	
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L	
7	49	132	0,902	209	165	41	157	5,6	35	25	
8	55	96	0,933	232	183	40	153	4,2	42	36	
9	51	145	0,998	198	182	45	124	6,6	28	24	
10	62	53	0,756	227	144	39	179	5,9	41	35	
11	50	61	0,854	217	136	41	166	3,8	33	29	
12	53	110	0,941	221	179	38	148	5,8	37	26	
		<b>53,3</b>	<b>99,5</b>	<b>0,897</b>	<b>217</b>	<b>165</b>	<b>40,7</b>	<b>155</b>	<b>5,3</b>	<b>36</b>	<b>29,2</b>

**Semana 1**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px-igG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
7	49	123	0,912	208	168	41	156	5,8	37	27
8	55	105	0,875	229	181	40	154	4,9	41	43
9	51	132	0,914	201	178	44	128	6,4	35	28
10	62	96	0,665	225	149	40	177	5,9	40	38
11	50	83	0,806	216	147	42	165	4,7	36	31
12	53	105	0,915	219	180	38	149	5,6	39	30
		<b>107</b>	<b>0,848</b>	<b>216</b>	<b>167</b>	<b>40,8</b>	<b>155</b>	<b>5,5</b>	<b>38</b>	<b>32,3</b>

**Semana 2**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px-igG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
7	49	119	0,945	207	169	40	157	5,9	32	29
8	55	99	0,927	230	179	40	154	5,6	39	44
9	51	141	0,983	197	185	45	126	6,4	29	32
10	62	67	0,844	223	155	40	176	5,8	42	37
11	50	78	0,915	218	146	41	165	3,7	35	33
12	53	114	0,926	215	182	39	147	5,9	35	35
		<b>103</b>	<b>0,923</b>	<b>215</b>	<b>169</b>	<b>40,8</b>	<b>154</b>	<b>5,55</b>	<b>35,3</b>	<b>35</b>

ES 2 700 791 T3

**Semana 3**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px- IgG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
7	49	118	0,999	201	165	40	156	5,2	32	28
8	55	99	0,876	233	182	41	157	4,9	39	43
9	51	133	0,858	195	164	44	134	6,7	29	36
10	62	69	0,761	219	153	41	175	5,1	42	47
11	50	83	0,944	226	132	42	161	4,2	35	31
12	53	105	0,832	209	167	38	149	5	35	37
		<b>101</b>	<b>0,878</b>	<b>214</b>	<b>160</b>	<b>41</b>	<b>155</b>	<b>5,2</b>	<b>35,3</b>	<b>37</b>

TABLA 2

**Línea de referencia**

**Chocolate + Licopeno**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px- IgG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
1	52	73	0,904	217	121	40	132	4,5	22	40
2	55	46	0,842	211	200	37	169	4,7	30	33
3	63	88	0,871	249	199	42	174	5,3	30	27
4	59	150	0,901	136	170	37	167	6,2	48	110
5	47	112	0,660	228	168	40	150	4,6	40	45
6	49	123	0,789	227	113	42	130	5,5	120	154
	54	<b>98,7</b>	<b>0,827</b>	<b>211</b>	<b>162</b>	<b>39,7</b>	<b>154</b>	<b>5,1</b>	<b>48,7</b>	<b>68,2</b>

**Semana 1**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px- IgG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
1	52	76	0,943	195	120	40	130	4,2	22	40
2	55	38	0,912	183	200	37	167	4,8	30	32
3	63	69	0,838	233	179	42	170	5	30	26
4	59	143	0,522	132	162	37	162	6,1	49	73
5	47	97	0,720	208	161	40	149	4,4	38	42
6	49	101	0,324	193	99	42	127	5	74	137
		<b>87,3</b>	<b>,710</b>	<b>191</b>	<b>153</b>	<b>39,7</b>	<b>151</b>	<b>4,9</b>	<b>40,5</b>	<b>58,3</b>

**Semana 2**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px- IgG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
1	52	44	0,452	193	119	40	129	4,3	22	40
2	55	19	0,81	183	202	37	167	4,7	27	36
3	63	58	0,448	223	178	42	170	5,1	30	28
4	59	63	0,522	130	161	37	160	6,2	45	70
5	47	88	0,23	200	159	40	147	4,5	38	41
6	49	89	0,214	191	89	42	125	5,8	70	132
		<b>60,2</b>	<b>0,446</b>	<b>187</b>	<b>151</b>	<b>39,7</b>	<b>150</b>	<b>5,1</b>	<b>38,7</b>	<b>57,8</b>

**Semana 3**

ID	Edad	IOD µM MDA	Px- IgG U/ml	TC	TG	HDL	LDL	GL	AST	ALT
				mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mmol/L	U/L	U/L
1	52	53	0,129	193	119	40	129	4,3	22	40
2	55	21	0,742	182	188	38	160	4,5	27	35
3	63	41	0,081	225	171	42	170	5,2	30	27
4	59	50	0,096	130	158	38	159	6,1	44	70
5	47	61	0	189	154	40	137	5,0	38	39
6	49	54	0,120	190	84	43	122	5,5	72	130
		<b>46,7</b>	<b>0,195</b>	<b>185</b>	<b>146</b>	<b>40,1</b>	<b>146</b>	<b>5,1</b>	<b>38,1</b>	<b>56,8</b>

TABLA 3

**Voluntarios clínicamente sanos con hipercolesterolemia***Efecto de dosis*

5 52 voluntarios clínicamente sanos, 26 hombres y 26 mujeres, edad 35-61 años, fueron reclutados para este estudio, Los criterios de inclusión principales fueron:

10 colesterol sérico total elevado por encima de 200 mg/dL y/o triglicéridos por encima de 150 mg/dL, ningún paciente dispuesto a participar en el estudio fue tratado previamente, durante al menos 3 meses antes del estudio, con medicamentos hipolipemiantes, suplementos dietéticos o dietas especiales para el control de lípidos o peso.

15 Todos los voluntarios fueron asignados al azar y divididos en seis grupos. Se incluyeron 10 participantes en el grupo de control y en el grupo que recibió chocolate que contenía 0,36 mg de licopeno por 1 gramo del producto. Otros cuatro grupos se formaron a partir de 8 voluntarios cada uno. Cada participante recibió el suministro para una semana del mismo tamaño de 10 g de chocolatina con una concentración diferente de licopeno, o sin él.

20 Todas las muestras de chocolate fueron enmascaradas, por lo que los participantes no sabían qué composición de chocolate estaban ingiriendo. Todas las muestras de sangre recogidas también se enmascararon, por lo que el laboratorio analítico no sabía de qué voluntarios y de qué grupo se analizaron las muestras. Cada semana, los participantes eran invitados a la clínica cuando se verificaba el cumplimiento del chocolate ingerido, se recogía la sangre de estas personas y se entregaba un nuevo lote de suministro de chocolate para una semana.

25 La duración del ensayo fue de 4 semanas. Se estudiaron los efectos de las siguientes concentraciones de licopeno, "L-tug", en el chocolate: 0,0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,35, 0,7 mg de licopeno por 1 g de chocolate.

**Resultados***Colesterol*

30 Los efectos del chocolate con diferente concentración de licopeno en el nivel elevado de colesterol total y otros parámetros bioquímicos de los participantes se presentan en la tabla 4a y la tabla 5.

35 Estos resultados mostraron que el chocolate con 0,1 mg de licopeno por 1 g de producto ya pudo reducir el colesterol total elevado, aunque los cambios no fueron estadísticamente significativos. Sin embargo, el chocolate con 0,2 mg de licopeno y más, por 1 g del producto, producía constantemente un efecto reductor del colesterol en el suero de los participantes. El efecto significativo ya se recogió a partir de la segunda semana de prueba y alcanzó su máximo en la cuarta semana.

*Bioquímica*

40 El efecto de este licopeno / L-tug chocolate en otros parámetros bioquímicos era insignificante para las dosis estudiadas (tabla 5). Presumiblemente esto se debió a que en la mayoría de los grupos estos parámetros estaban dentro de sus normas fisiológicas y no había mucho espacio para su normalización/"mejora".

*Inflamación y oxidación*

45 Sin embargo, la mayoría de los participantes fueron positivos en los marcadores de daño oxidativo inflamatorio, IOD, o en algunos casos en presencia de marcadores inflamatorios tales como LDL-Px y Chl.-IgG. Esto probablemente se debió a que la mayoría de los participantes tenían entre 50 y 60 años, y estos marcadores con frecuencia pueden detectarse en un nivel subclínico incluso en personas aparentemente sanas de esta edad y mayores.

50 En todos los grupos que tomaron el chocolate L-tug, la reducción del IOD fue significativa. Sin embargo, la reducción de otros dos marcadores inflamatorios se observó solo en algunos grupos y no fue aparentemente dependiente de la dosis. Esta incoherencia podría ser el resultado de un número pequeño de participantes en los grupos evaluados.

*Transporte de oxígeno en plasma*

60 La otra observación de interés fue que la ingestión del chocolate L-tug dio como resultado un aumento dependiente de la dosis del transporte de oxígeno en plasma. Esta propiedad útil podría usarse para aumentar y/o restablecer el suministro de la depresión de O<sub>2</sub> molecular o la reducción de la cual puede ocurrir no solo en muchas condiciones clínicas, sino también durante ejercicios vigorosos o con el envejecimiento.

**Momento de la ingestión de chocolate en relación con la ingesta de alimentos**

65 Para evaluar una posible hipótesis de la incorporación de licopeno en los quilomicrones y lipoproteínas, durante su

reensamble en el momento de la digestión de la grasa alimentaria, llevamos a cabo el siguiente estudio. Reclutamos un grupo de voluntarios clínicamente sanos de edades y nivel similares de hipercolesterolemia. El diseño del estudio fue el mismo que el estudio anterior, pero en lugar de tomar chocolate L-tug con la comida principal pedimos a los participantes ingerir el chocolate entre las comidas, al menos dos horas después de su desayuno o almuerzo, y durante al menos dos horas antes de su siguiente comida, almuerzo o cena.

El producto utilizado fue el mismo formato de 10 g que contiene 0,7 mg de licopeno por 1 g de chocolate.

*Resultados*

Los resultados de este estudio se presentan en la tabla 4b.

Se observó que este también fue capaz de reducir el colesterol total elevado, pero la reducción significativa solo se observó en la semana 3 del ensayo. El máximo de la reducción fue en la cuarta y última semana.

Fue interesante observar que, aunque el efecto reductor del colesterol fue destacado, todavía fue significativamente menor que cuando se tomó el mismo chocolate durante la comida principal. Si la semana 4 se toma como punto de referencia, la dosis de 0,7 mg de chocolate L-tug ingerido con el “estómago vacío” fue más efectiva que la dosis de 0,1 pero menos efectiva que la dosis de 0,2 mg cuando se tomaron con alimentos.

Tabla 4a Dependencia de dosis - ingesta de chocolate con comida principal

L-tug, por 1 g chocolate	Colesterol sérico total, mg/dL				
	0 w	1 w	2 w	3 w	4 w
0,0 mg	217 + 4,2	215 + 5,6 $\Delta = -2, p^*$	215 +5,1 $\Delta = -2, p^*$	214 + 4,9 $\Delta = -3, p^*$	213 + 5,3 $\Delta = -4, p^*$
0,1 mg	229 + 3,0	228 +6,5 $\Delta = -1, p^*$	$\Delta = -5, p^*$	$\Delta = -5, p^*$	218 + 1,5 $\Delta = -11, p = 0,01$
0,2 mg	228 + 4,1	216 + 8,3 $\Delta = -12, p^*$	<b>199 + 2,0</b> $\Delta = -29, p < 0,001$	<b>191 + 5,0</b> $\Delta = -37, p < 0,001$	<b>191 + 5,3</b> $\Delta = -37, p < 0,001$
0,3 mg	226 + 6,0	202 + 9,3 $\Delta = -24, p^*$	<b>198 + 6,8</b> $\Delta = -28, p < 0,05$	<b>196 + 7,3</b> $\Delta = -30, p < 0,05$	<b>192 + 4,3</b> $\Delta = -34, p = 0,002$
0,35 mg	221 + 2,8	215 + 3,0 $\Delta = -6, p^*$	209 + 2,6 $\Delta = -12, p < 0,05$	208 + 2,5 $\Delta = -13, p < 0,05$	195 + 8,5 $\Delta = -26, p = 0,02$
0,7 mg	241 + 14,0	231 + 14,8 $\Delta = -10, p^*$	<b>190 + 7,0</b> $\Delta = -51, < 0,05$	<b>188 + 6,3</b> $\Delta = -53, p = 0,01$	<b>186 + 5,3</b> $\Delta = -55, p < 0,01$

Tabla 4b. Ingesta de chocolate entre comidas dos horas después y dos horas antes de cualquier ingesta de alimento

0,7 mg	243 + 13,7	230 + 10,1 $\Delta = -13, p^*$ $\Delta_F [+/-] = -1$ $P_F [+/-] < 0,05$	218 + 4,3 $\Delta = -25, p < 0,05$ $\Delta_f [+/-] = +28$ $P_{F [+/-]} > 0,01$	<b>210 + 5,1</b> $\Delta = -33, p < 0,05$ $\Delta_F [+/-] = -22$ $P_F [+/-] < 0,05$	<b>208 + 5,8</b> $\Delta = -35, p < 0,05$ $\Delta_F [+/-] = -22$ $P_F [+/-] < 0,01$
--------	---------------	--	---	--	--

$P_F [+/-]$  - diferencia entre los mismos puntos de tiempo en grupos que ingirieron chocolate L-tug con o sin alimento

Tabla 5. Efecto de diferentes dosis de chocolate L-tug en parámetros bioquímicos y marcadores de inflamación y oxidación

ES 2 700 791 T3

L-tug, por 1 g chocolate	TG mg/dL	HDL mg/dL	LDL mg/dL	glucosa	AST	ALT	CRP	IOD en µM	LDL-Px ELISA ×10 <sup>3</sup>	Chl.p-IgG ELISA ×10 <sup>3</sup>	Plasma-O <sub>2</sub>
0	165 ± 12,8 162 ± 11,5 Δ=3, p > 0,05	40 ± 0,9 40 ± 0,8 p > 0,05	155 ± 9,9 154 ± 8,7 p > 0,05	5,9 ± 0,7 5,8 ± 0,6 p > 0,05	32 ± 4,1 34 ± 3,9 p > 0,05	41 ± 5,6 40 ± 5,1 p > 0,05	5,5 ± 1,4 6,1 ± 1,2 p > 0,05	138 ± 11,4 124 ± 12,7 p > 0,05	354 ± 41 401 ± 38 p > 0,05	675 ± 55 722 ± 64 p > 0,05	0,812 ± 75 0,823 ± 66 Δ=11, p > 0,05
0,1 mg	99 ± 3,8 88 ± 3,3 Δ= 11, p > 0,05	43 ± 1,8 44 ± 1,3 p > 0,05	131 ± 3,8 127 ± 4,0 Δ=4, p > 0,05	5,4 ± 0,6 5,4 ± 0,3 p > 0,05	40 ± 3,8 36 ± 2,8 p > 0,05	34 ± 3,8 30 ± 2,7 p > 0,05	6,0 ± 0,9 5,4 ± 0,5 p > 0,05	115 ± 10,8 9 ± 4,6 p < 0,001	175 ± 33 212 ± 59 p > 0,05	577 ± 98 521 ± 67 p > 0,05	1.153 ± 83 1.263 ± 19 Δ=0.110, p > 0,05
0,2 mg	146 ± 10,3 120 ± 8,5 Δ=26, p < 0,05	44 ± 0,6 45 ± 0,5 p > 0,05	145 ± 9,0 135 ± 8,5 Δ=10, p > 0,05	5,1 ± 0,5 6,1 ± 0,4 p > 0,05	29 ± 2,1 28 ± 1,6 p > 0,05	25 ± 3,0 25 ± 2,3 p > 0,05	5,1 ± 1,3 4,9 ± 1,2 p > 0,05	85 ± 7,8 19 ± 6,5 p < 0,001	142 ± 19 0 ± 1,8 p < 0,001	444 ± 22 260 ± 18 p < 0,001	0,811 ± 31 1.363 ± 57 Δ=0,552, p < 0,001
0,3 mg	162 ± 10,7 142 ± 9,1 Δ=20, p > 0,05	40 ± 1,0 41 ± 0,8 p > 0,05	154 ± 3,6 142 ± 1,8 Δ=10, p < 0,05	4,9 ± 0,4 4,7 ± 0,2 p > 0,05	49 ± 8,6 36 ± 4,7 p > 0,05	60 ± 9.1 53 ± 10 p > 0,05	6,7 ± 1,5 5,5 ± 1,1 p > 0,05	155 ± 10,7 36 ± 4,1 p < 0,05	511 ± 97 0 ± 38 p < 0,05	828 ± 59 286 ± 49 p < 0,05	0,731 ± 37 0,963 ± 24 Δ=0,223, p < 0,01
0,35 mg	136 ± 28,1 106 ± 16,5 Δ=30, p > 0,05	43 ± 1,0 44 ± 1,5 p > 0,05	140 ± 10,0 132 ± 9,3 Δ=8, p > 0,05	6,3 ± 0,4 5,5 ± 0,3 p > 0,05	41 ± 2,4 39 ± 2,3 p > 0,05	49 ± 4.0 45 ± 4.1 p > 0,05	6,4 ± 1,7 5,8 ± 1,6 p > 0,05	130 ± 20,8 55 ± 8,8 p < 0,05	160 ± 36 206 ± 47 p > 0,05	552 ± 41 506 ± 66 p > 0,05	0,988 ± 24 1.263 ± 19 Δ=0,275, p < 0,001
0,7 mg	128 ± 10,8 108 ± 6,6 Δ=20, p > 0,05	42 ± 0,6 43 ± 0,7 p > 0,05	153 ± 3,8 141 ± 3,0 Δ=8, p > 0,05	5,4 ± 0,2 6,0 ± 0,4 p > 0,05	29 ± 2,5 29 ± 2,0 p > 0,05	29 ± 3.5 27 ± 1.8 p > 0,05	6,8 ± 0,8 6,6 ± 0,5 p > 0,05	86 ± 9,0 25 ± 7,8 p < 0,05	66 ± 12 3 ± 0,5 p < 0,05	negativa negativa	1.099 ± 87 1.430 ± 85 Δ=0,331, p < 0,01

Estudio postprandial

5 Se reclutaron 8 voluntarios clínicamente sanos, 4 hombres y 4 mujeres, de 35 a 60 años, para este estudio, Los principales criterios principales de inclusión fueron:

- ningún paciente fue tratado previamente, durante al menos 3 meses anteriores al estudio, con medicamentos hipolipemiantes, suplementos dietéticos o lípidos especiales o dietas de control de peso,
- dispuestos a participar en el estudio.

15 Todos los voluntarios recibieron una comida rica en grasas estandarizada de 50 g de mantequilla como parte de un sándwich con 2 rebanadas de pan blanco, Luego, sin ningún descanso, se pidió a los voluntarios que ingirieran 10 g de chocolatina sin licopeno, Durante la ingesta de esta comida de prueba, a los voluntarios se les dieron 200 ml de té descafeinado caliente con leche desnatada que no contenía más del 1 % de grasa láctea.

Se recogió la sangre justo antes de la ingesta de la comida y cada hora durante 4 horas después de eso.

20 Después de una semana de descanso, a los mismos voluntarios se les pidió tomar exactamente la misma comida de 50 g de la misma mantequilla con dos rebanadas del mismo pan blanco, Luego, a cada uno de ellos se le pidió que tomara 10 g de la chocolatina con 7 mg de licopeno mezclado en el protocolo descrito anteriormente, Se permitió el mismo tipo y volumen de té, y la sangre se recogió en el mismo protocolo que en la semana previa.

25 Los resultados de este estudio cruzado se presentan en la tabla 6, Estos demuestran que la ingestión de chocolate que contiene licopeno fue capaz de reducir la elevación de los triglicéridos postprandiales aproximadamente dos veces y el colesterol entre 2 y 3 veces, También fue interesante observar que la glucemia posprandial también se redujo con este chocolate L-tug.

30 Los cambios más notables se observaron cuando este chocolate con licopeno incorporado no solo pudo prevenir el aumento de los marcadores oxidativos inflamatorios en la sangre posprandial, sino que incluso causó su reducción por debajo del nivel de la línea de referencia (tabla 6).

Tiempo Postprandial	Ensayo A (control) 50 g mantequilla + 10 g chocolate (n = 8)					Ensayo B (control) 50 g mantequilla + 10 g L-tug chocolate (n = 8)				
	TC en mg/dL	TG en mg/dL	LDL en mg/dL	Glucosa en mmol/L	íPOD, $\mu\text{M MDA}$	TC en mg/dL	TG en mg/dL	LDL en mg/dL	Glucosa en mmol/L	íPOD, $\mu\text{M MDA}$
línea de referencia	184	108	133	5,0	87	188	109	133	5,0	86
1 h	208 $\Delta = 24 \pm 5,7$	119 $\Delta = 11 \pm 3,9$	136 $\Delta = 3 \pm 0,2$	6,0 $\Delta = 1,0 \pm 0,3$	94 $\Delta = 7 \pm 0,7$	206 $\Delta = 18 \pm 4,6$ $P(A-B) > 0,05$	124 $\Delta = 15 \pm 2,9$ $P(A-B) > 0,05$	136 $\Delta = 3 \pm 0,2$ $P(A-B) > 0,05$	5,9 $\Delta = 0,9 \pm 0,2$ $P(A-B) > 0,05$	87 $\Delta = 1 \pm 0,5$ $P(A-B) > 0,05$
2 h	215 $\Delta = 31 \pm 5,2$	129 $\Delta = 21 \pm 3,3$	136 $\Delta = 3 \pm 0,2$	6,1 $\Delta = 1,1 \pm 0,1$	97 $\Delta = 10 \pm 0,6$	202 $\Delta = 14 \pm 4,7$ $P(A-B) < 0,01$	120 $\Delta = 11 \pm 2,8$ $P(A-B) < 0,05$	135 $\Delta = 2 \pm 0,1$ $P(A-B) > 0,05$	5,7 $\Delta = 0,7 \pm 0,1$ $P(A-B) < 0,05$	89 $\Delta = 3 \pm 0,6$ $P(A-B) > 0,05$
3 h	204 $\Delta = 20 \pm 5,3$	120 $\Delta = 12 \pm 3,1$	135 $\Delta = 2 \pm 0,1$	5,6 $\Delta = 0,6 \pm 0,2$	97 $\Delta = 10 \pm 0,9$	194 $\Delta = 6 \pm 4,5$ $P(A-B) < 0,05$	114 $\Delta = 5 \pm 2,4$ $P(A-B) < 0,05$	133 $\Delta = 0 \pm 0,1$ $P(A-B) < 0,05$	5,4 $\Delta = 0,4 \pm 0,1$ $P(A-B) > 0,05$	72 $\Delta = -14 \pm 1,3$ $P(A-B) < 0,01$
4 h	193 $\Delta = 9 \pm 4,4$	110 $\Delta = 2 \pm 3,4$	134 $\Delta = 1 \pm 0,2$	5,3 $\Delta = 0,3 \pm 0,2$	99 $\Delta = 12 \pm 1,3$	195 $\Delta = 7 \pm 4,2$ $P(A-B) > 0,05$	110 $\Delta = 1 \pm 2,7$ $P(A-B) > 0,05$	133 $\Delta = 0 \pm 0,2$ $P(A-B) > 0,05$	5,1 $\Delta = 0,1 \pm 0,2$ $P(A-B) > 0,05$	70 $\Delta = -16 \pm 1,1$ $P(A-B) < 0,01$

TC - colesterol total, TG - triglicéridos,

$\Delta$  - cambios en concentraciones medias con la línea de referencia,

5  $P_{(A-B)}$ : diferencias estadísticas en los mismos parámetros en los mismos puntos de tiempo entre el ensayo A y el ensayo B,

8 voluntarios clínicamente sanos, 4 hombres y 4 mujeres, edad media – 35 - 60 años.

**Estadísticamente significativo entre el control y las pruebas L-tug**

10

Tabla 6, Efecto de chocolate L-tug en perfil y marcadores de bioquímica postprandial de oxidación inflamatoria en el suero de voluntarios sanos – estudio cruzado.

15

**Nuevas oportunidades para controlar el metabolismo lipídico y la inflamación y oxigenación del tejido**

Los resultados presentados aquí se abren a posibles nuevos mecanismos y nuevas formas no solo para controlar cambios ya desarrollados en el metabolismo lipídico, sino también para prevenir estos cambios.

20

Estos resultados también proporcionan el desarrollo de nuevas formas de controlar la inflamación subclínica y otras formas de inflamación y/o impulsar el transporte del oxígeno molecular en plasma, que podrían ser útiles para restaurar la saturación de oxígeno en los tejidos, lo que podría ser importante en muchas condiciones clínicas y para retrasar el envejecimiento.

25

Los resultados descritos aquí son inesperados porque se espera que el beneficio de añadir cualquier ingrediente con valor para la salud adicional a un producto de chocolate sea superado por las posibles consecuencias perjudiciales de consumir mayores cantidades de este producto alimenticio con alto contenido de grasa.

30

La reducción del contenido de grasa en productos alimenticios es la forma estándar de minimizar su carga de grasa en el cuerpo, Sin embargo, este enfoque generalmente no es útil para productos a base de cacao, tales como el chocolate, ya que la reducción de grasa afecta negativamente a las propiedades de fusión, sensación y sabor.

35

Los resultados descritos aquí muestran el resultado inusual e inesperado de la mezcla de carotenoides tales como el licopeno con productos a base de cacao, No solo se evita que la manteca de cacao contribuya al aumento de los lípidos en sangre, sino que la mezcla reduce activamente los lípidos que ya se encuentran en un nivel elevado.

40

Es decir, la invención aquí descrita no solo hace que los productos de cacao, tales como el chocolate, sean “más seguros” desde el punto de vista del impacto en la salud, sino que también lo hacen útil como un producto intervencionista proactivo para fines de adelgazamiento, reducción de lípidos y anti envejecimiento y para la prevención y ayuda en el cuidado de enfermedades metabólicas, prediabetes, cardiovasculares y otras.

**REIVINDICACIONES**

1. Producto alimenticio, que comprende chocolate y un compuesto de carotenoide, para usar en:
- 5 (a) la reducción de niveles elevados de colesterol, LDL y/o triglicéridos en una persona, preferiblemente cuando la persona tiene niveles elevados de colesterol, LDL y/o triglicéridos;  
(b) la reducción de la inflamación subclínica o clínica; y/o  
(c) la reducción del daño oxidativo inflamatorio;
- 10 en donde el producto alimenticio comprende entre 0,1 y 1 mg de compuesto de carotenoide por gramo de producto alimenticio, y  
en donde el producto alimenticio comprende una matriz homogénea que contiene chocolate y el compuesto de carotenoide.
- 15 2. Producto alimenticio para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto de carotenoide es luteína o zeaxantina o en el que el compuesto de carotenoide es, o comprende, un compuesto de licopeno, de preferencia licopeno.
- 20 3. Producto alimenticio para usar de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que:
- (a) el compuesto de carotenoide se proporciona como un producto rico en carotenoides seleccionado de pasta de tomate, salsa, concentrado, oleorresina, fracciones, extractos o moléculas de carotenoides sintéticos o purificados;
- 25 (b) el compuesto de carotenoide se proporciona como un producto rico en carotenoides a partir de frutas o verduras u otras plantas adecuadas, u hongos, levaduras, algas o bacterias, o como moléculas de carotenoides sintéticos o purificados
- (c) el producto alimenticio se produce mediante la mezcla o la combinación de productos de cacao en grano, el compuesto de carotenoide y opcionalmente uno o más ingredientes adicionales; y/o
- 30 (d) los productos de cacao en grano se mezclan, se combinan, se someten a sonicación, se secan por pulverización o se embeben usando otros medios junto con el compuesto de carotenoide en forma seca, líquida, de aerosol, congelada o fundida.
- 35 4. El producto alimenticio para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el producto alimenticio es:
- (a) pan, harina, cereales, galletas, productos de pastelería, crema para untar, pastas, salsas, mousses, crema, helado, pasteles o yogur;
- (b) un producto de confitería, de preferencia chocolate; o
- 40 (c) el producto alimenticio es una bebida, de preferencia un chocolate, o cacao o un batido o un suplemento líquido.
5. El producto alimenticio para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el chocolate es negro, con leche o blanco.
- 45 6. El producto alimenticio para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el producto alimenticio es un suplemento dietético o un producto nutracosmético o nutracéutico.
- 50 7. El producto alimenticio para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el producto alimenticio es para usar en el tratamiento de un estado clínico asociado a elevados niveles de colesterol, LDL, y/o triglicéridos, inflamación subclínica o clínica o daño oxidativo inflamatorio de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el estado clínico se selecciona de trastorno cerebrovascular, trastorno cardiovascular, hipertensión, síndrome metabólico, hipertensión arterial, prediabetes, diabetes tipo II, sobrepeso (por ejemplo, IMC > 25), obesidad (por ejemplo, IMC > 30), anemia, reumatismo, artritis reumatoide, artritis no reumatoide, disfunción de la próstata o de los testículos, disfunción eréctil, pérdida de la libido, celulitis, funciones relacionadas con el hígado, la piel y otros órganos relacionados con la edad, sarcopenia y caquexia.
- 55 8. El producto alimenticio para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el producto alimenticio comprende 10 g de chocolate y 0,7 mg de un compuesto de carotenoide por 1 g de chocolate, de preferencia licopeno, en donde el producto alimenticio es chocolate y en el que el chocolate es negro o con leche.