

# Ho in mente il cioccolato ....

**Gioacchino Calapai**

**Università di Messina**

**14 dicembre 2019**

**Firenze**







# Cacao

## Ingredienti che influenzano le funzioni del sistema nervoso centrale

Il cioccolato è sicuramente l'alimento più desiderato. Giudicato insostituibile dalla gran parte degli appassionati.

E' un alimento derivato dai semi dell'albero del cacao, ampiamente diffuso e consumato in tutto il mondo. Nella produzione artigianale di qualità, il cioccolato è preparato utilizzando la pasta di cacao, con l'aggiunta di ingredienti e aromi.

Con il termine cacao si intendono i semi essiccati della pianta *Theobroma cacao*. Il cacao è una ricca fonte di polifenoli con livelli che vanno dal 12 al 18 % del peso secco.

# “The Food of the Gods”

I rapporti sui benefici per la salute del cioccolato risalgono addirittura alla pratica medica azteca e maya (ad es. Hurst et al., 2002) e da allora esistono numerose prove aneddotiche sugli effetti del cioccolato sulla salute.

Solo alla fine del XX secolo, tuttavia, le indicazioni sulla salute sono diventate più scientificamente rilevanti per i prodotti di cacao e il cioccolato, il che alla fine ha portato all'approvazione dell'Agenzia europea per la sicurezza alimentare (EFSA, 2012) di un'indicazione sulla salute del cioccolato fondente con alto contenuto di flavanolo come impatto sul "mantenimento della normale vasodilatazione endotelio-dipendente".

## SCIENTIFIC OPINION

### **Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to cocoa flavanols and maintenance of normal endothelium-dependent vasodilation pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006<sup>1</sup>**

**EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)<sup>2, 3</sup>**

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy

In order to obtain the claimed effect, 200 mg of cocoa flavanols should be consumed daily. This amount could be provided by 2.5 g of high-flavanol cocoa powder or 10 g of high-flavanol dark chocolate. These amounts of cocoa powder or dark chocolate can be consumed in the context of a balanced diet. The target population is the general population.

# chocolate on the brain

**Chocolate.** Often times called the "love drug," Ask any woman and you'll hear a monologue on how addictive chocolate can be, how chocolate could take the place of any other painkiller during "that time of the month." In fact, according to statistics, chocolate is America's favorite flavor with over 50% of American adults (men and women) choosing it as their top flavor. Every year, billions of dollars are spent on chocolates for sweethearts during Valentine's Day week. The Hershey Chocolate factory in Hershey, Pennsylvania even makes sure to keep billions of cocoa beans and gallons of whole milk on hand in order to make hundreds of millions of chocolate bars at any time. So, what's the deal with chocolate? Is it just that sweet flavor, or is it something else?

Well, in fact, chocolate has 580 known chemicals contained in its source cocoa plant and beans. Who are the main chemical players and how exactly do they stimulate our brains?

## phenethylamine

Also known as PEA, this chemical influences a great number of neurotransmitter and hormonal systems. It stimulates the central nervous system and produces an enhancement in mood similar to the effect of an anti-depressant. It works as a psychomotor stimulant meaning that it positively enhances the interplay between motor, muscular, and mental activities.

## phenylalanine

An amino acid that is naturally found in the brains cells of mammals. It is often sold as a nutritional supplement for its reputed anxiolytic and antidepressant effects.

## tryptophan

An essential chemical in the human diet, Tryptophan is a precursor chemical for Serotonin, Nicotin, and Auxin. On its own, Tryptophan has been sold in dietary stores as a purported sleeping aid as it releases chemicals that relax the brain. The chemical is also known for its anti-depressant effects.

## caffeine

A central nervous system and metabolic stimulant that is used both recreationally and medically to reduce physical fatigue and remove mental darkness when causally realized on chocolate's sugar. Caffeine stimulates the central nervous system first at the high levels, increasing alertness and wakefulness, clear and faster thought and focus. It later stimulates the spinal cord levels at higher doses.

## theobromine

Also known as xanthine, it is a bitter alkaloid of the cocoa plant, found in chocolate, and in leaves of tea plants and yohimbe. Theobromine is a stimulant composed of theophylline and caffeine. It has a similar effect to caffeine on the central nervous system. It is the primary chemical found in cocoa and chocolate, but the amount can vary from 2 to 10%. In modern medicine, theobromine is used as a blood vessel widener, a diuretic and a heart stimulant. In relation to the central nervous system, it has been associated with chocolate eating as an aphrodisiac, though this is unproven. Like caffeine, however, it produces wakefulness, focus and mental stimulation as it increases heart rate yet dilates blood vessels which decrease blood pressure. It is theobromine that comprises the main toxicity for animals such as dogs who metabolize the chemical much more slowly.

## serotonin

A neurotransmitter derived from tryptophan that is a well-known contributor to feelings of well-being. It is often known as a "happiness hormone" despite not being a hormone. It is released as a response to positive events. Through multiple studies, it has been found that serotonin is involved with the perception of food availability and with social rank. Those found with anxiety-related disorders are often found lacking sufficient serotonin receptors, which there is help in case depression. As a result, serotonin is the main chemical found in prescription anti-depressants. Despite the fact that it is often spoken of in concordance with dopamine, dopamine increases appetite while serotonin effectively blocks it.

## dopamine

Commonly associated with the reward system of the brain, providing feelings of enjoyment. Dopamine is released through experiences of food, sex, and drugs. Its effects are most associated with anticipatory desire and motivation (wanting), as opposed to consummatory pleasure (liking).

dopamine pathways

## theophylline

A methylxanthine drug, often used for respiratory diseases. It is often found naturally in tea and in cocoa beans in amounts as high as 5.7 mg/g. The main actions of theophylline involve relaxing the bronchial muscles, increasing blood pressure, and as a stimulant affecting the medullary respiratory center of the brain.

serotonin pathways

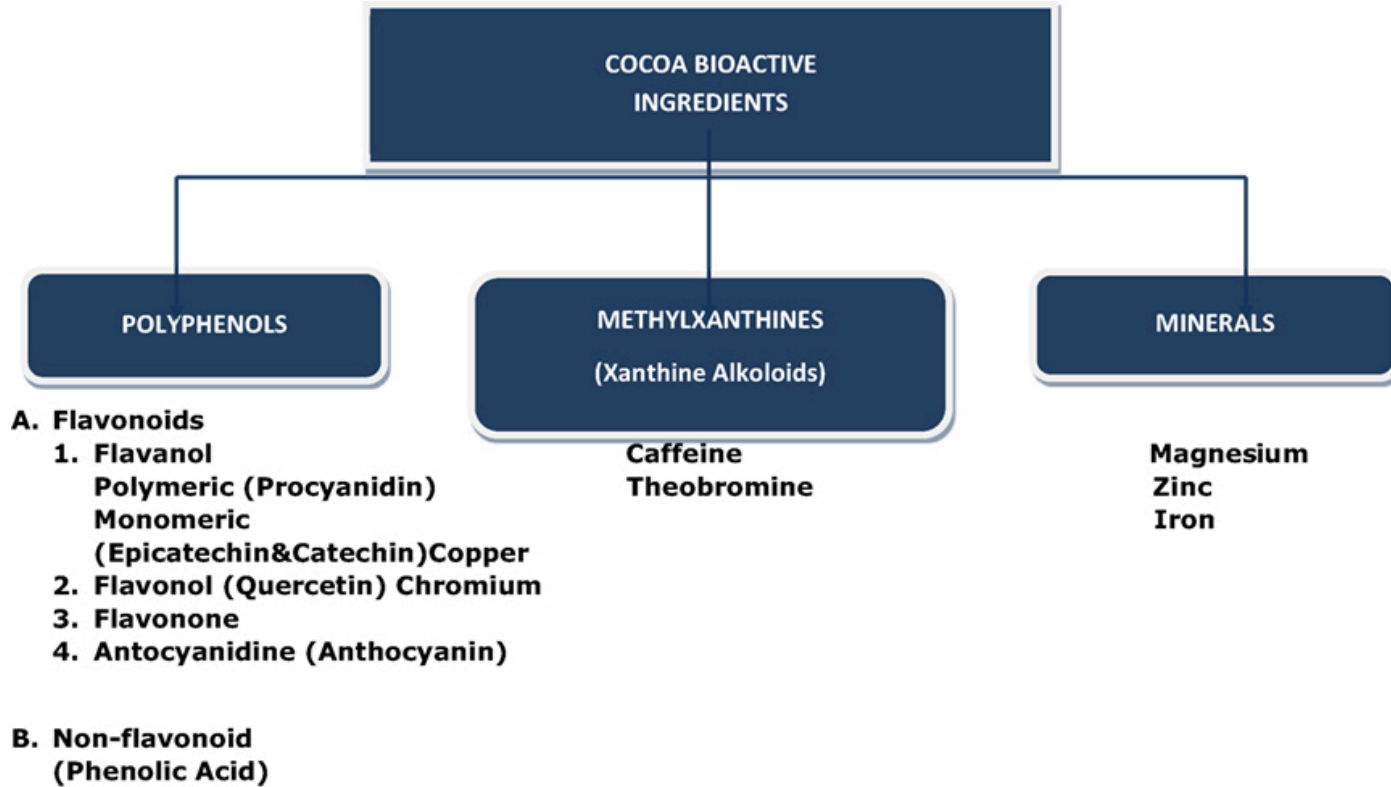
**Table 1.** Chemical composition of Acticoa cocoa powder.

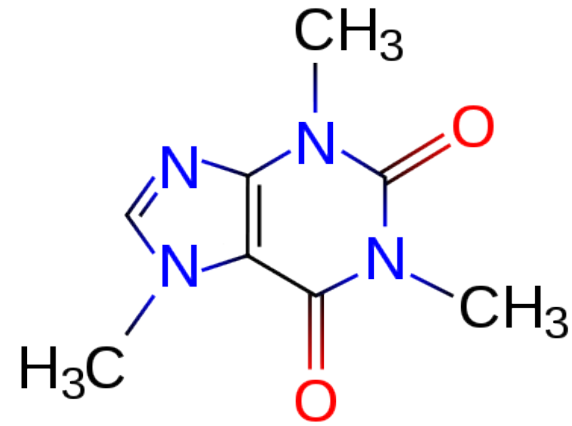
Measure	Concentration, mg/g
Total Flavanols <sup>a</sup>	137.19
Flavanols (up to 5P) <sup>b</sup>	15.7
Individual flavanol	
Catechin	2.87
Epicatechin	4.27
Procyanidin B2	3.7
Other B-type dimer	0.95
Procyanidin C1	2.72
Other B-type trimer	0.43
Other B-type tetramer	0.56
Other B-type pentamer	0.2
Theobromine	19.26
Caffeine	1.45
Caffeoyl asparitic acid	1.83

<sup>a</sup> PAC result from 4-dimethylaminocinnamaldehyde(DMAC) colorimetric method is expressed as B-type proanthocyanidin, dimer equivalent of milligram PACs content per gram of cocoa powder. <sup>b</sup> Cocoa powder methanol extract was injected into UHPLC-Orbitrap MS system. Catechin/Epicatechin, procyaidin B1 and procyanidin C1 used as standards for monomers, dimmers and trimers, respectively. Tetramers and pentamers were measured according to previously published procedures using (-) cathechin (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) as reference standard with relative response factors.

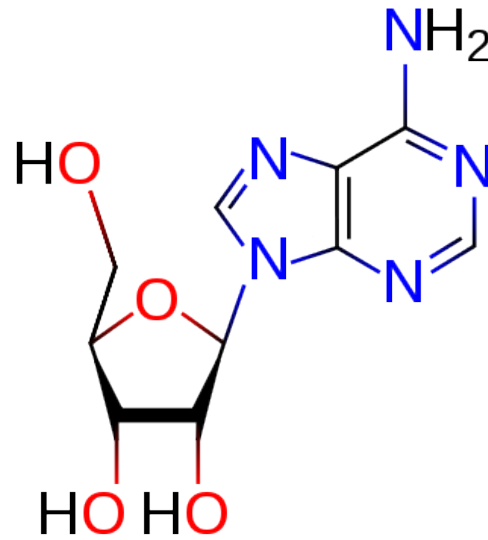


# INGREDIENTI BIOATTIVI DEL CACAO





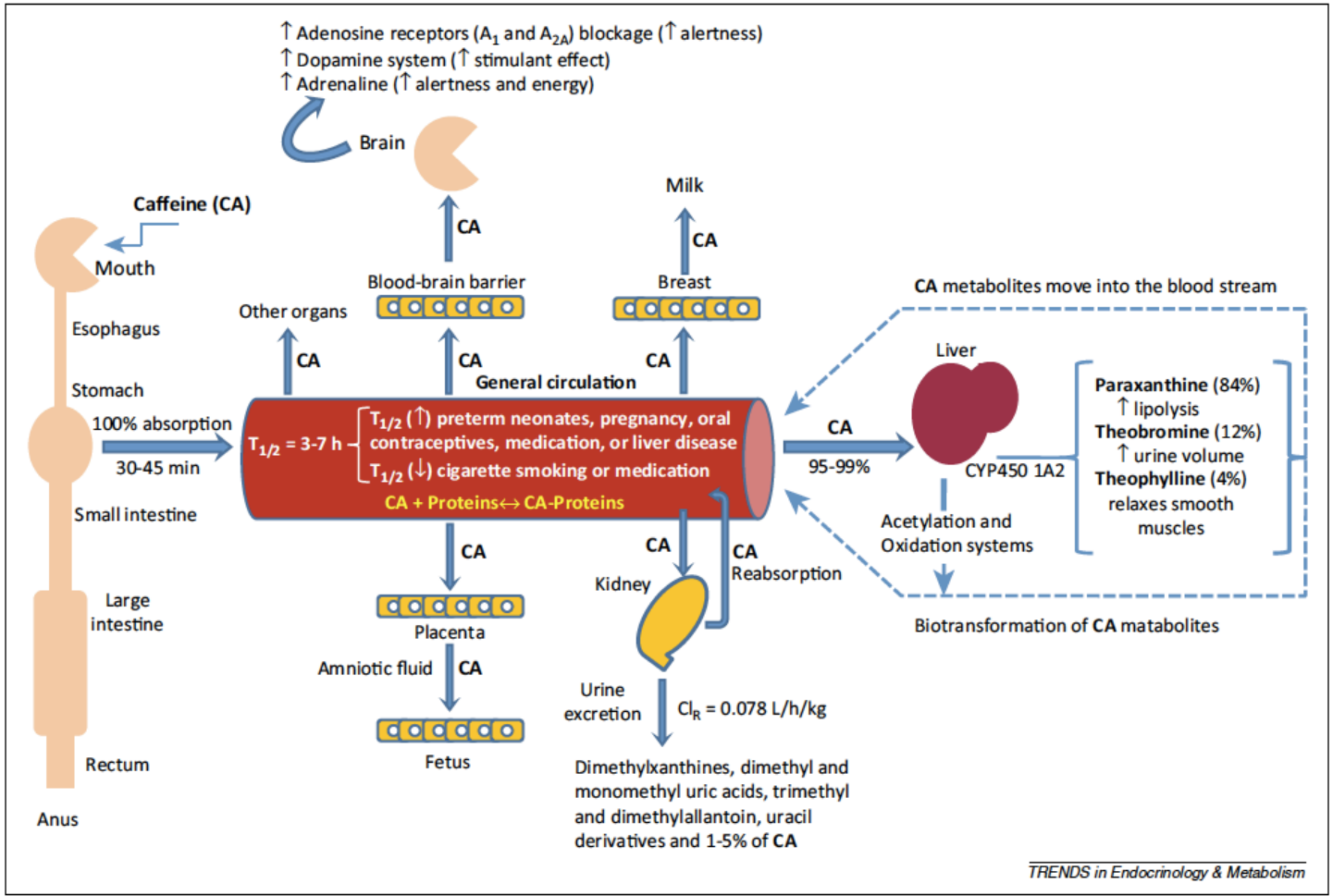
Caffeine



Adenosine

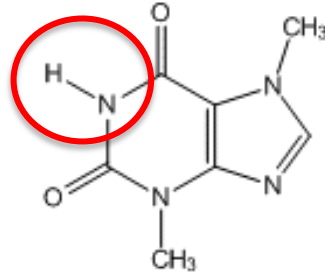
**Adenosina: nucleoside composto da una molecola di adenina legata ad un ribosio attraverso un legame beta-N9-glicosidico. Ha dunque una funzione estremamente importante nella costituzione del DNA.**

**L'adenosina riveste un ruolo fondamentale anche nei processi biochimici come ad esempio nel trasferimento di energia da ATP ad ADP e nella trasduzione del segnale, attraverso il cAMP.**

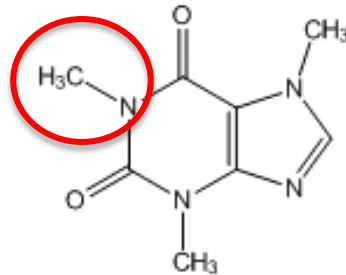


# Alcaloidi del cacao

Alkaloids



Theobromine (3)



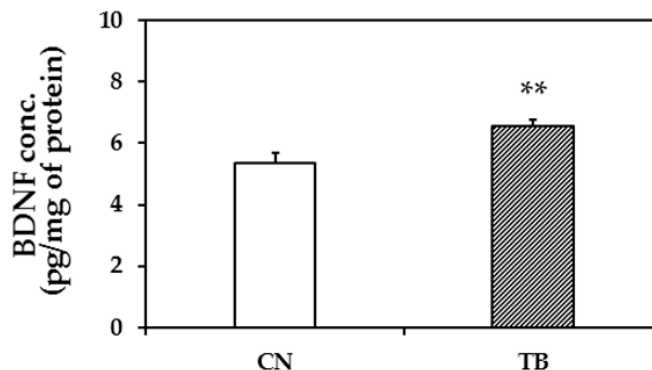
Caffeine (4)

Figure 8. Alkaloids in chocolate.

Article

# Theobromine Improves Working Memory by Activating the CaMKII/CREB/BDNF Pathway in Rats

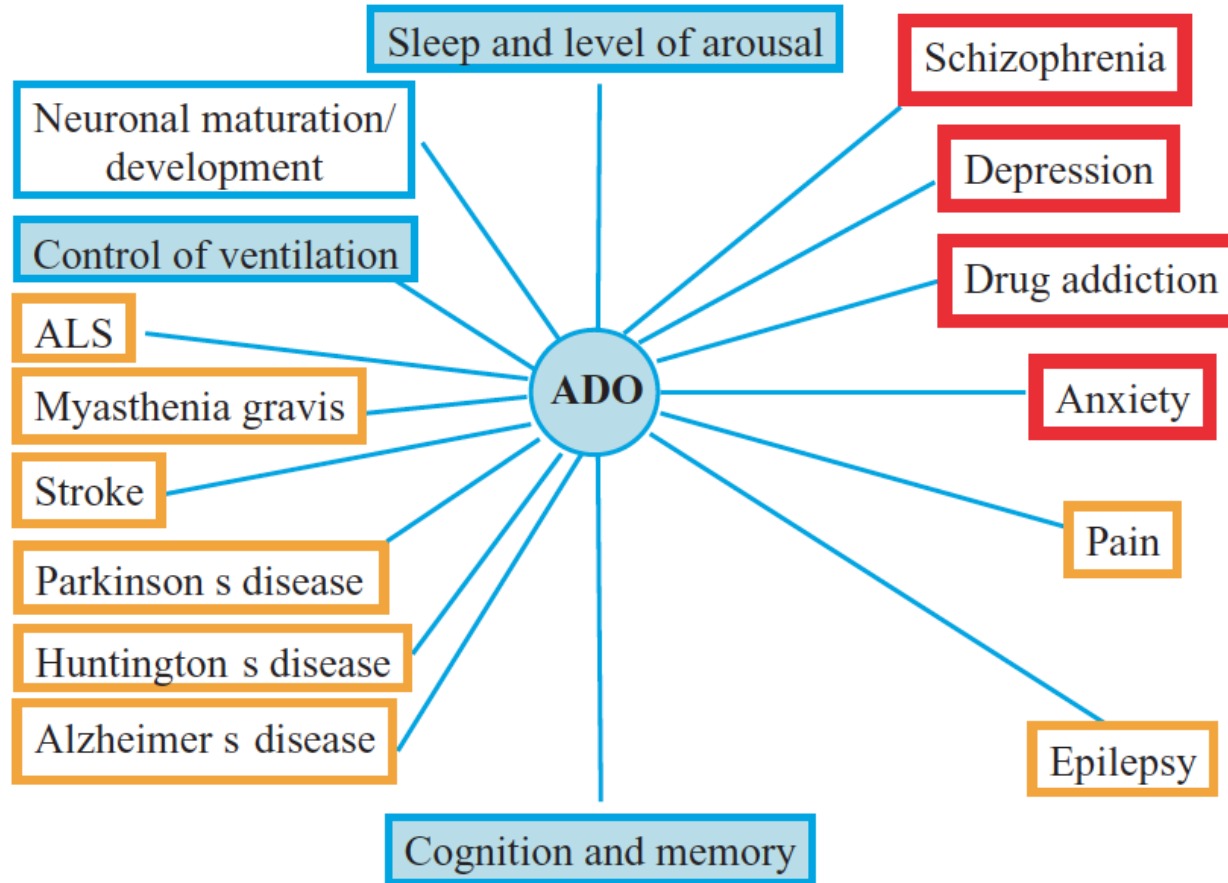
Rafiad Islam <sup>1,2</sup> , Kentaro Matsuzaki <sup>1,\*</sup> , Eri Sumiyoshi <sup>1</sup> , Md Emon Hossain <sup>1,3</sup>,  
 Michio Hashimoto <sup>1</sup>, Masanori Katakura <sup>1,4</sup> , Naotoshi Sugimoto <sup>1,5,\*</sup>  and Osamu Shido <sup>1</sup>



**Figure 4.** The effect of theobromine (TB) on the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein level in the medial prefrontal cortex (mPFC). BDNF protein level in the mPFC of TB-fed rats (TB rats) was significantly higher than that of control rats (CN rats). Hippocampal BDNF protein levels did not differ between groups (Figure S1). Values are the mean  $\pm$  S.E.M. ( $n = 5$  for each group). \*\*  $p < 0.01$ ; significant difference between groups.



# ADO, neuronal functions, dysfunctions & diseases



# Cacao

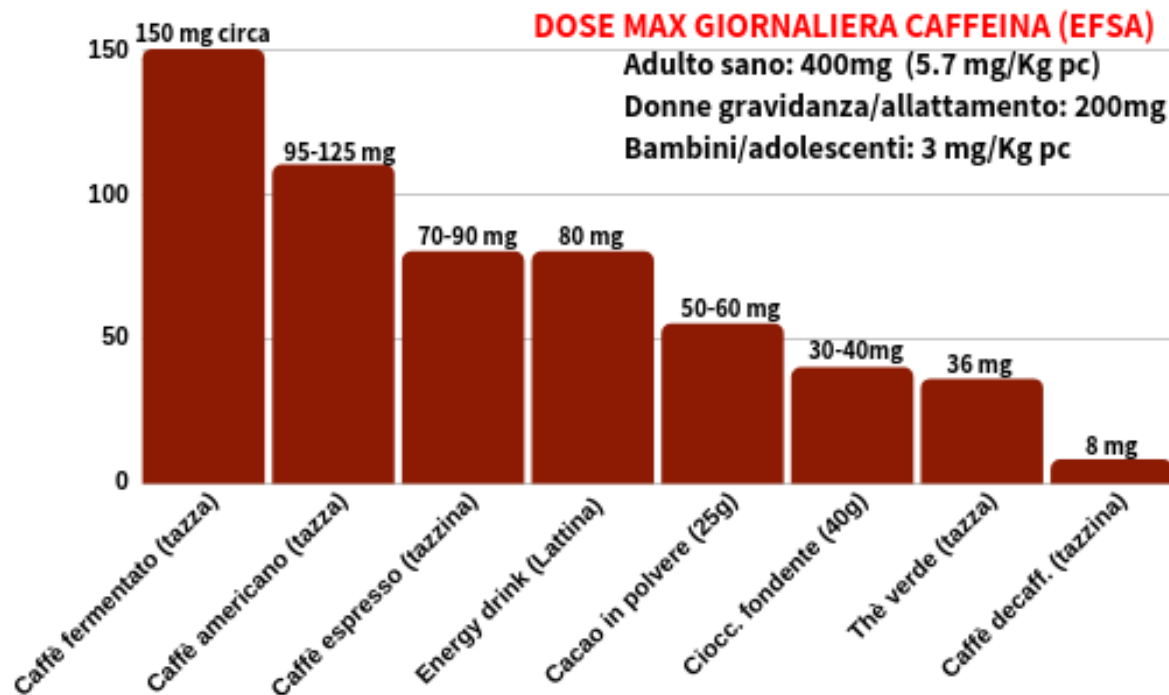
Ingredienti che influenzano le funzioni del sistema nervoso centrale

**Metilxantine: caffeina e teobromina**

**Flavonoidi: flavanoli (epicatechine, procianidine)**

**Caffeina, teobromina e flavanoli, da soli o in associazione.  
Possono produrre effetti neurocognitivi.**

# “The Food of Gods”



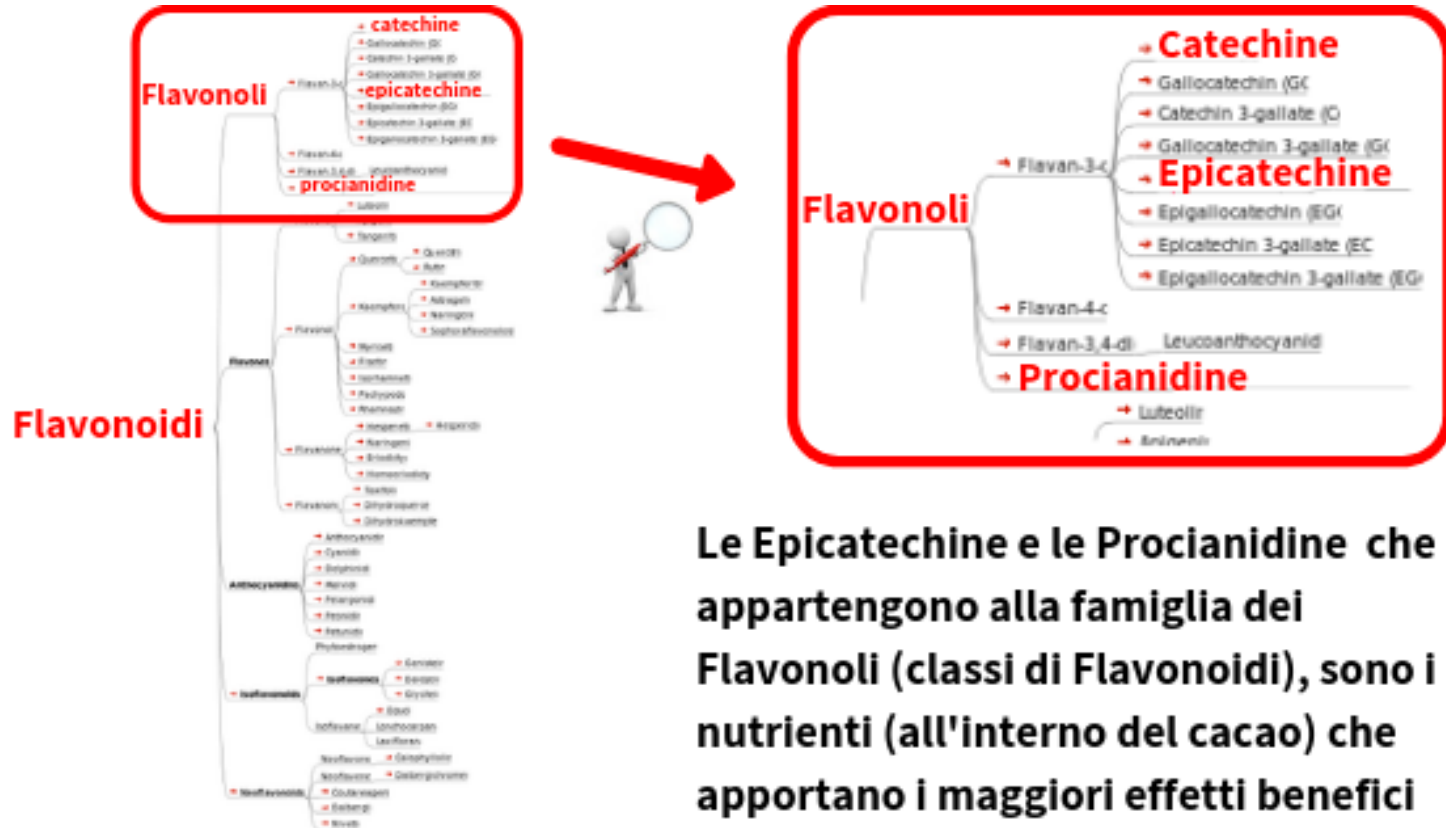
# Cacao

Ingredienti che influenzano le funzioni del sistema nervoso centrale

## I POLIFENOLI

Il cacao è una ricca fonte di polifenoli con livelli che vanno dal 12 al 18 % del peso secco. I flavanoli Flavan-3-ols, sono un sottogruppo dei flavonoidi una particolare classe di sostanze chimica di origine vegetale che si trovano comunemente nella frutta, nei vegetali, nell'uva, nel cacao.

# “The Food of Gods”





## Cocoa and Chocolate in Human Health and Disease

David L. Katz, Kim Doughty, and Ather Ali

TABLE 2. POLYPHENOL CONTENT AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF SELECTED COMMERCIALY AVAILABLE COCOA PRODUCTS

Type of product	n	% NFCS	% fat	ORAC ( $\mu\text{mol}$ of TE)	Total polyphenols <sup>a</sup>	Epicatechin (mg/g)	Catechin (mg/g)
Cocoa powder	3	81.6 (8.2)	15.0 (5.8)	803.7 (78.2)	52.4 (7.5)	1.854 (0.849)	0.578 (0.285)
Baking chocolate	4	47.5 (2.2)	52.6 (0.7)	456.8 (50.7)	27.7 (1.3)	1.142 (0.103)	0.491 (0.222)
Dark chocolate	3	23.4 (5.3)	34.7 (5.5)	198.0 (47.0)	13.0 (1.7)	0.336 (0.031)	0.164 (0.064)
Semisweet chocolate chips	3	16.9 (1.7)	28.9 (1.0)	180.3 (8.5)	12.4 (0.6)	0.483 (0.085)	0.194 (0.071)
Milk chocolate	3	6.2 (1.2)	32.6 (4.0)	62.0 (17.6)	4.4 (1.1)	0.099 (0.067)	0.043 (0.038)
Chocolate syrup	3	6.2 (1.3)	0.9 (0.3)	63.4 (4.9)	4.2 (0.6)	0.074 (0.046)	0.042 (0.015)

Adapted from Miller *et al.*

Values are presented as means and standard deviations.

<sup>a</sup>Total polyphenols expressed as gallic acid equivalents.

NFCS, nonfat cocoa solids.



SHORT COMMUNICATION



OPEN ACCESS

## Epicatechin, a component of dark chocolate, enhances memory formation if applied during the memory consolidation period

Maria Fernell, Cayley Swinton, and Ken Lukowiak

Hotchkiss Brain Institute Cumming School of Medicine, University of Calgary, Calgary, AB, Canada

### ABSTRACT

Epicatechin (Epi), a flavanol found in foods such as dark chocolate has previously been shown to enhance memory formation in our model system, operant conditioning of aerial respiration in *Lymnaea*. In those experiments snails were trained in Epi. Here we ask whether snails exposed to Epi before training, during the consolidation period immediately following training, or 1 h after training would enhance memory formation. We report here that Epi is only able to enhance memory if snails are placed in Epi-containing pond water immediately after training. That is, Epi enhances memory formation if it is applied during the memory consolidation period as well as if snails are trained in Epi-containing pond water.

### ARTICLE HISTORY

Received 27 May 2016  
Revised 17 June 2016  
Accepted 17 June 2016

### KEYWORDS

consolidation period;  
Epicatechin; long-term  
memory; *Lymnaea*

# FLAVONOIDI: SEI CLASSI PRINCIPALI

**Antocianidine** (antocianine = glicosidi delle antocianidine)

**Flavonoli**

**Isoflavoni**

**Flavani** (catechine= 3 ossi flavani)

**Flavoni**

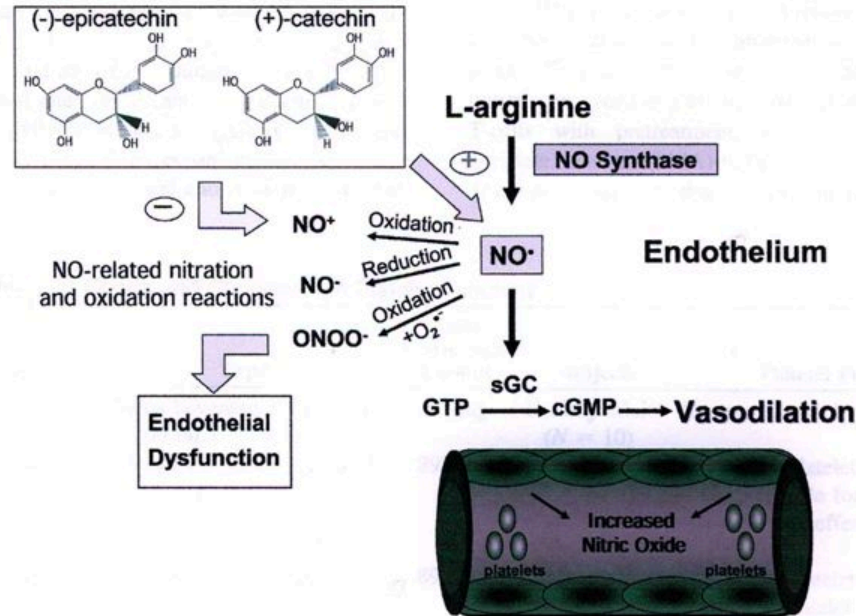
**Flavanoni**

**Calconi**

**Auroni**

**Proantocianidine** (tannini condensati)

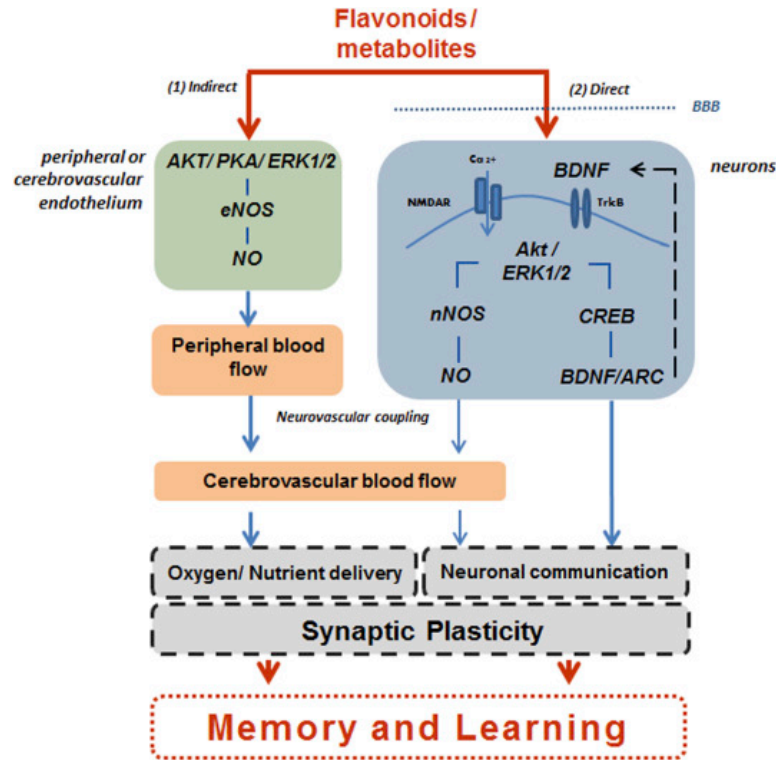
# Flavonoidi del Cacao



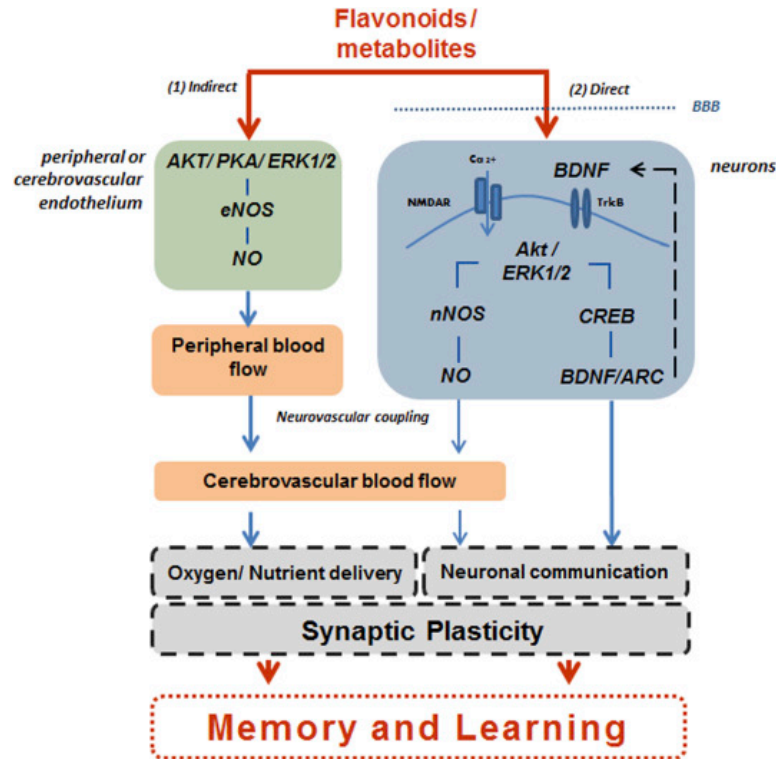
**Figure 1.** In the endothelial cells, nitric oxide (NO<sup>•</sup>) is synthesized from L-arginine by the enzyme nitric oxide synthase. NO<sup>•</sup> then diffuses into the vascular smooth muscle cells and activates the enzyme soluble guanylyl cyclase (sGC). Guanosine 3',5'-cyclic monophosphate (cGMP) is formed from GTP, resulting in vasodilation. Epicatechin and catechin may signal the release of NO<sup>•</sup> and inhibit NO-related nitration and oxidation reactions that generate the reactive nitrogen species (RNS) nitrosonium (NO<sup>+</sup>), nitroxyl anion (NO<sup>-</sup>), and peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>). These reactive species may be linked to NO<sup>•</sup> overproduction in inflammatory diseases such as coronary artery disease. Formation of peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) due to superoxide anions (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) reacting with NO<sup>•</sup> leads to endothelial dysfunction and decreased vasodilation. This deleterious process may be inhibited by epicatechin and catechin.

I flavonoidi del cacao e i loro metaboliti attraversano la barriera emato-encefalica e sono in grado di attivare l'espressione delle proteine neuromodulatorie in alcune regioni del cervello implicate nei processi di apprendimento e memoria, suggerendo che il suo l'uso può avere avere azioni a breve termine sul sistema cognitivo, umore e comportamento (Sokolov 2013).





Flavonoids, found in a variety of fruits, vegetables and derived beverages, have been identified as a group of promising bioactive compounds capable of influencing different aspects of brain function, including cerebrovascular blood flow and synaptic plasticity, both resulting in improvements in learning and memory in mammalian species. However, the precise mechanisms by which flavonoids exert these actions are yet to be fully established.



accumulating data indicate an ability to interact with neuronal receptors and kinase signaling pathways which are key to neuronal activation and communication and synaptic strengthening. Alternatively or concurrently, there is also compelling evidence derived from human clinical studies suggesting that flavonoids can positively affect peripheral and cerebrovascular blood flow, which may be an indirect effective mechanism by which dietary flavonoids can impact on brain health and cognition.

Il flavanolo più comune che si trova nel cacao, l'epicatechina, viene rapidamente assorbito nell'uomo ed è rilevabile nel plasma sanguigno già 30 minuti dopo l'assunzione (Rusconi e Conti, 2010). I livelli di epicatechina raggiungono un picco di 2-3 ore dopo l'assunzione, con una forte correlazione positiva con la dose di cioccolato ingerito e ritornano al basale di 6-8 ore dopo il consumo (Rein et al., 2000).

I flavonoidi possono interagire in modo specifico all'interno di una serie di vie di segnalazione cellulare, principalmente con proteine attivate da mitogeni (MAPK), regolate da segnale extracellulare (ERK) e fosfoinositide 3-chinasi (PI3-chinasi/Akt) che modulano le trascrizioni di segnalazione fattori (Croft, 2016).

# Addicted to Cocoa ?

In effetti, oltre alle calorie, i consumatori sono spesso preoccupati dalla possibilità che questi prodotti alimentari possano causare dipendenza. Tuttavia, ci sono forti prove sperimentali che tutti questi alimenti e bevande non contengono sostanze che creano dipendenza in alte concentrazioni, ad eccezione della caffeina e, possibilmente, della teobromina (Parker e Brotchie, 2012).

In breve, il desiderio irrefrenabile di cioccolato è il risultato di una relazione malsana con l'alimento piuttosto che il risultato di attività biochimiche dei suoi componenti (tranne, forse, caffeina) (Visioli et al., 2009). Inoltre, per coloro che usano cioccolato, tè o caffè come stimolatori dell'umore, tale alimentazione emotiva non produce alcun beneficio marcato e duraturo per gli stati psicologici e dell'umore. Al contrario, questo approccio emotivo al cibo potrebbe effettivamente contribuire alla disforia dell'umore (Parker e Brotchie, 2012).

# Addicted to Cocoa ?

L'opinione prevalente è che il desiderio nei confronti del cacao (del cioccolato) sia collegato fondamentalmente alle specifiche qualità gustative del cioccolato. (highly palatable, very sweet, and produces an optimal mouthfeel).

Se il desiderio fosse stimolato solo dalle sostanze psicoattive, allora sarebbe la polvere del cacao ad essere preferita rispetto agli prodotti.

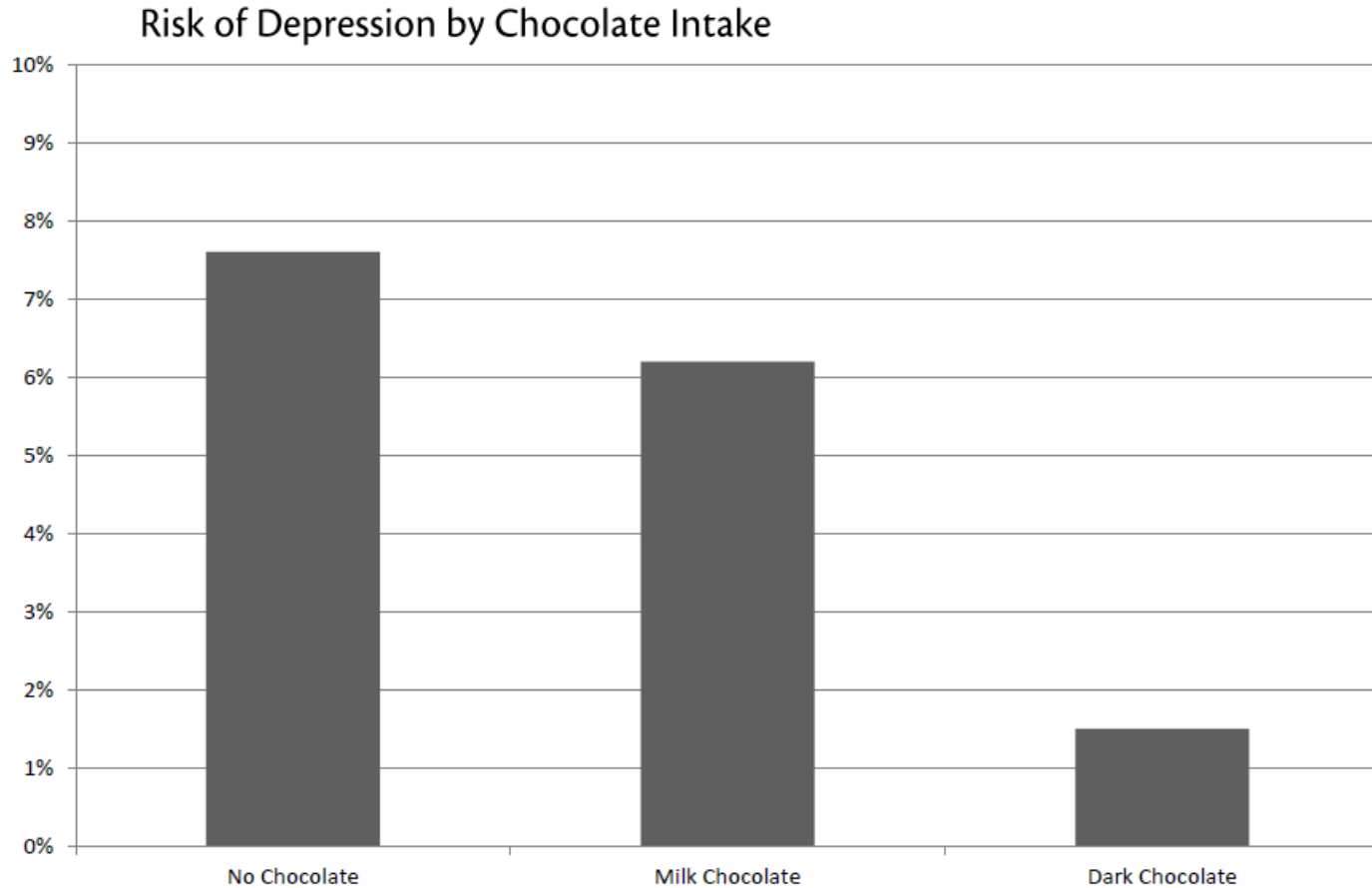
# Cacao e depressione

**Il consumo di cioccolato è una forma di automedicazione nella depressione ?**

# Cacao e depressione

1. **Flavanoli.** Particolarmente presenti nel cioccolato fondente , ma si trovano anche nel vino rosso, mele, frutti di bosco, tè verde e tè nero (tutti alimenti il cui uso è associato a miglioramenti cognitivi e dell'umore).
2. **Caffeina e teobromina.** Questi agonisti dell'adenosina hanno rapidi effetti sul livello di energia e sistema cognitivo.
3. **N-acylethanolamines.** Acido grasso analogo dell'anandamide, cannabinoide endogeno con effetti ansiolitici ed euforizzanti.
4. **Phenylethylamine.** Monoamina naturale che aumenta il rilascio di noradrenalina, dopamina e acetilcolina.

# Cocoa and depression





# Cocoa and Alzheimer

# “The Food of the Gods”

Le fave di cacao contengono basse quantità variabili di caffeina (0,06-0,4%), un noto psicostimolante. Il Cacao in polvere contiene la più alta quantità di caffeina seguita da cioccolato da forno non zuccherato. Il cioccolato fondente varierà considerevolmente nella quantità di caffeina (35-200 mg 50 g<sup>-1</sup>) mentre il cioccolato al latte contiene quantità relativamente basse di caffeina (14 mg 50 g<sup>-1</sup>).

# “The Food of the Gods”

Il chicco di cacao è anche la fonte più concentrata di un'altra metilxantina, la teobromina,.

A differenza della caffeina, la teobromina, presente anche nel cacao fagioli, ha solo un lieve effetto stimolante sulla parte centrale sistema nervoso. La quantità di teobromina varia con il prodotto finito.

Cioccolato fondente, cottura non zuccherata cioccolato e cacao in polvere contengono più teobromina di cioccolato al latte e sciroppi di cioccolato. Per esempio, 50 g di cioccolato al latte contengono circa 75 mg di teobromina mentre lo stesso peso di cioccolato fondente può contenere Teobromina fino a 220 mg.

# “The Food of the Gods”

Il cacao contiene anche altri composti con potenziale attività biologica. Queste sono ammine biogene come serotonina, triptofano, feniletilamina, tirosina, triptamina e tiramina. La concentrazione di questi composti aumenta durante la fermentazione e diminuisce durante la tostatura e l'alcalinizzazione. Altri composti con attività biologica sono anandamide, salsolinolo e treidro-b-carboline.

# “The Food of the Gods”

Studi sugli animali hanno dimostrato che i flavonoidi assorbiti interagiscono direttamente con un numero di bersagli cellulari e molecolari nel cervello, esercitando pronunciati effetti antiossidanti e migliorando il tessuto cerebrale e la funzione nelle regioni principalmente implicate nell'apprendimento, nella memoria e nella cognizione (Andrés-Lacueva et al., 2005; Passamonti et al., 2005; Vauzour et al., 2008). Ciò suggerisce un potenziale ruolo neuromodulatore e neuroprotettivo per i flavanoli del cacao e il loro significato per la funzione cognitiva e affettiva, il controllo esecutivo e il comportamento. Tuttavia, finora solo pochi studi sull'uomo hanno affrontato in modo specifico gli effetti neurobiologici, cognitivi, affettivi e comportamentali dei prodotti a base di cacao ricchi di flavanolo.

# “The Food of the Gods”

I monoisomeri di flavanolo epicatechina e catechina sono i composti flavonoidi predominanti nel cacao.

Questi monomeri rappresentano le molecole di base degli oligomeri concatenati, le proantocianidine. Le proprietà antiossidanti dei flavanoli sono mediate chimicamente attraverso l'ossidazione di due gruppi idrossilici aromatici a un chinone (Bors e Michel, 2002).

I flavanoli si trovano in alte concentrazioni in bevande come tè verde e vino rosso, frutta e bacche (ad es. Buccia di mela, uva, pere, mirtillo), verdure (pomodori, soia e olive) e, soprattutto, cacao (Manach et al., 2004; Neveu et al., 2010; Scalbert et al., 2011; Sies et al., 2012). Il contenuto di flavonoidi nei prodotti di cacao e cioccolato differisce sostanzialmente a seconda della varietà di cacao (in alcuni fagioli, pari al 20%), dell'origine geografica, delle pratiche colturali, agricole e postharvest e della fabbricazione (Wollgast e Anklam, 2000; Niemenak et al., 2006).

# “The Food of the Gods”

Studi sugli animali dimostrano che i flavanoli e i loro metaboliti possono attraversare la barriera emato-encefalica, inducendo effetti benefici sul tessuto cerebrale e sulla funzione (angio- e neurogenesi, cambiamenti nella morfologia neuronale) e stimolando la circolazione sanguigna diffusa nel cervello (Vauzour et al ., 2008).

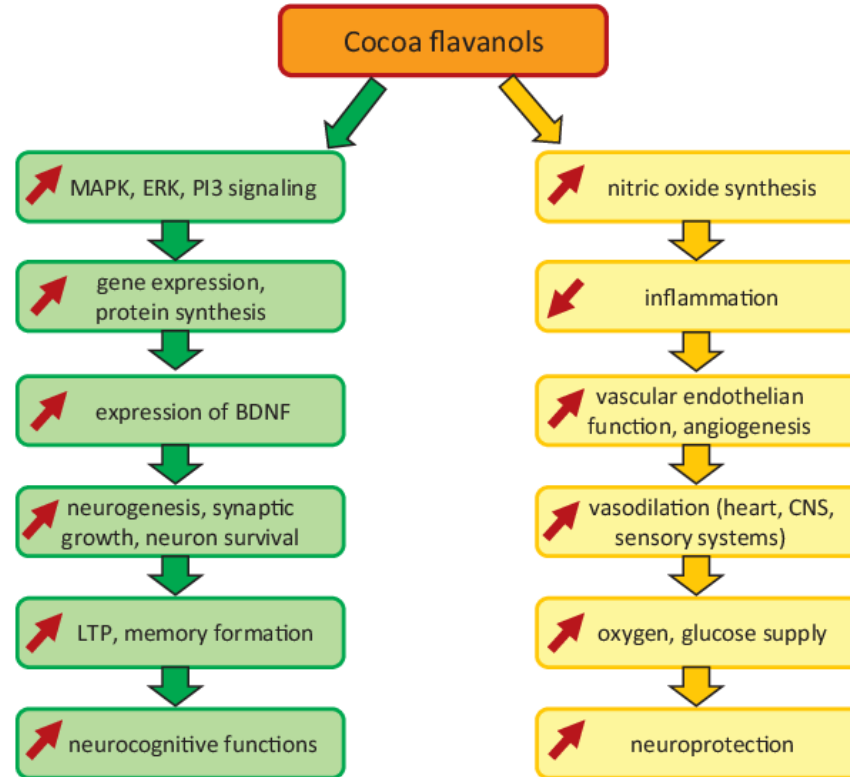
Il flavanolo più comune che si trova nel cacao, l'epicatechina (Whiting, 2001), viene rapidamente assorbito nell'uomo ed è rilevabile nel plasma sanguigno già 30 minuti dopo l'assunzione. I livelli di epicatechina raggiungono un picco di 2-3 ore dopo l'assunzione, mostrando una forte correlazione positiva con la dose di cioccolato ingerito (Richelle et al., 1999) e ritornano al basale di 6-8 ore dopo il consumo.

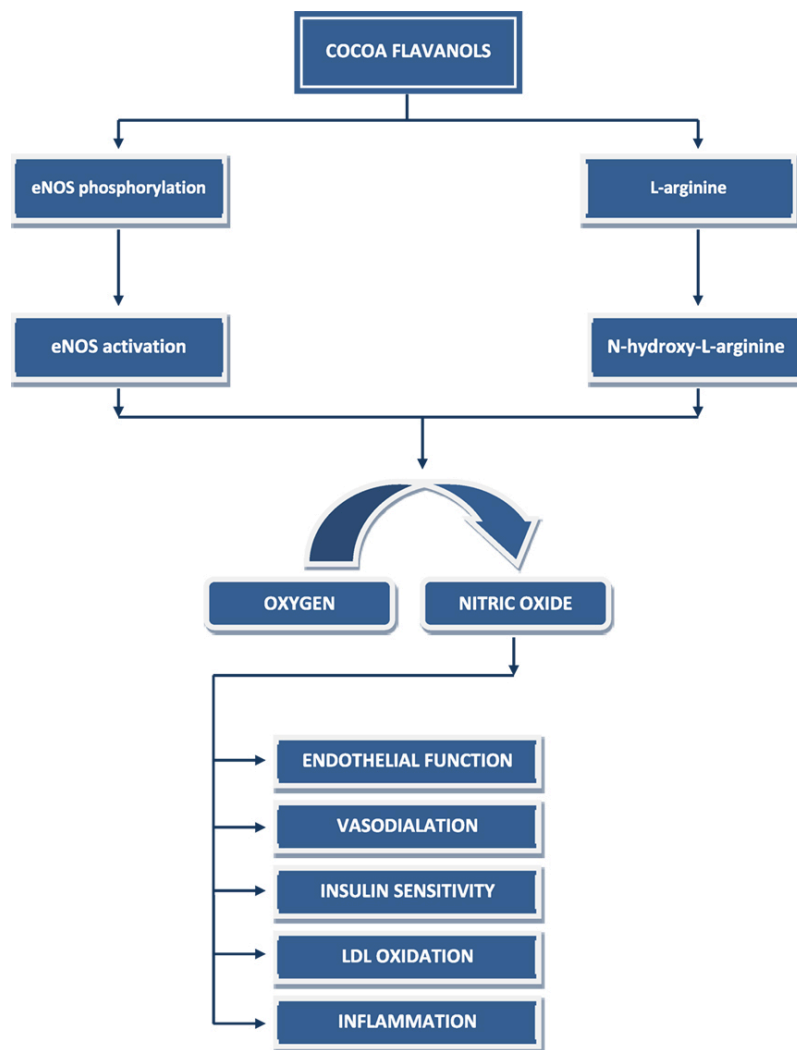
# “The Food of the Gods”

La possibilità che i flavanoli e i metaboliti penetrino e si accumulino nelle regioni del cervello principalmente legate all'apprendimento e alla memoria, suggeriscono che possono esercitare un impatto positivo diretto sul cervello, compresi cognizione e neuroprotezione (Nehlig, 2013). Si ritiene che l'impatto neurobiologico dei flavanoli sul cervello, sull'apprendimento, sulla memoria e sulla cognizione si verifichi in due modi principali (Fig. 1).

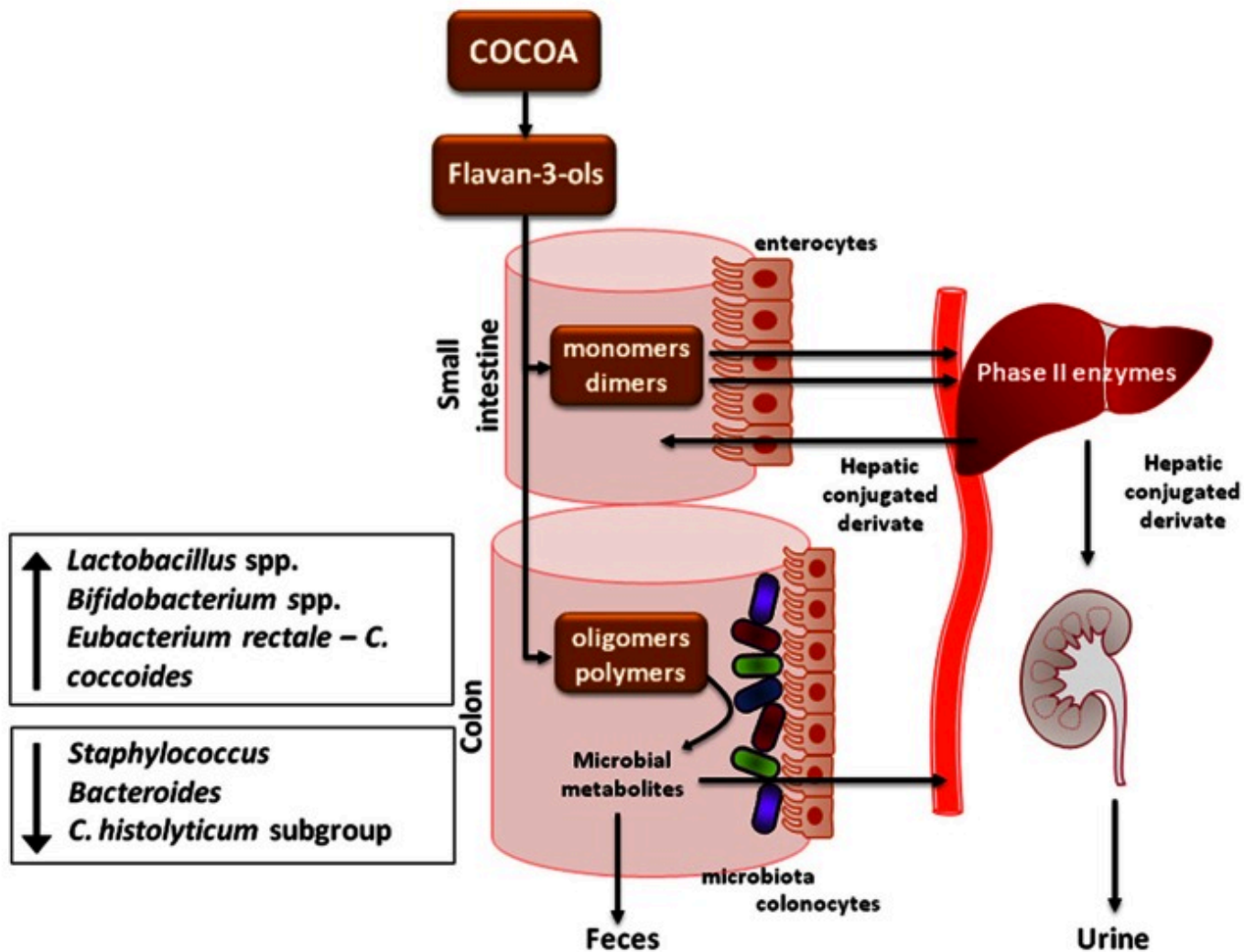


# EFFETTI DEI FLAVANOLI DEL CACAO

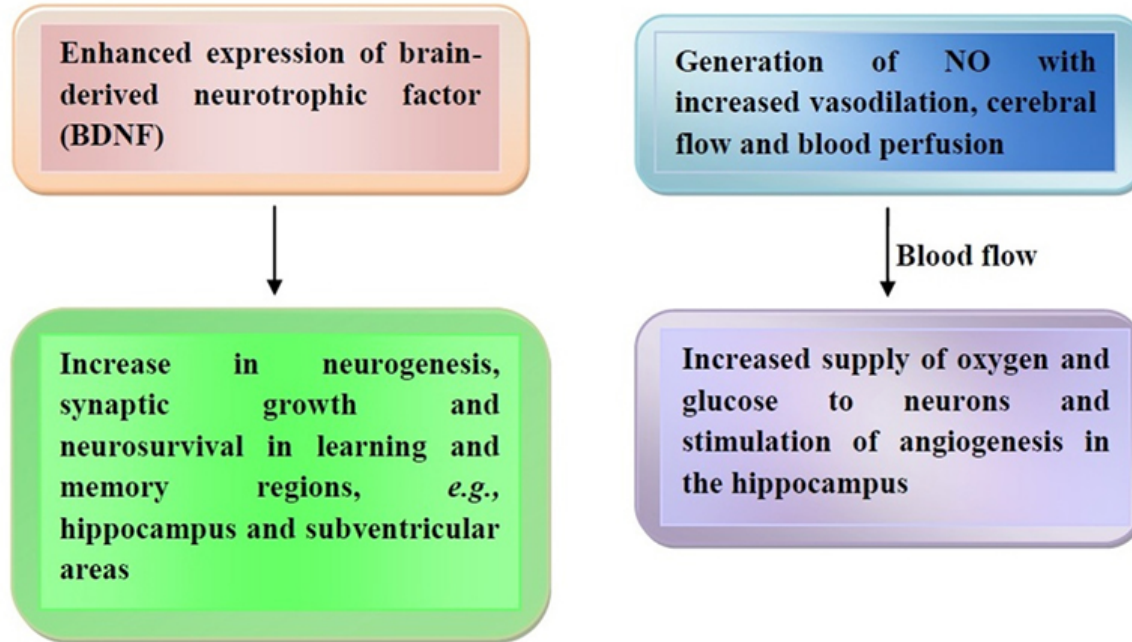




# Cacao, microbiota e cervello



# “The Food of the Gods”



### Biogenic amines in chocolate

e.g.  
Phenylethylamine  
Tyramine  
Tryptamine

Potentially induce drug-like neuro-physiological effects

### Methylxanthines in chocolate

Caffeine  
Theobromine

Stimulants which may contribute to the addictive nature of chocolate

### Anandamide and N-acylethanolamines in chocolate

N-oleoylethanolamine  
N-linoleoylethanolamine

Fatty acids which target the endogenous cannabinoid system of the brain

### Influences of hormones and neuropeptides

Episodic changes in estrogen and progesterone levels with concomitant fluctuations in neuropeptides such as galanin and neuropeptide Y stimulate the desire for fat and carbohydrate and may be responsible for premenstrual increases in chocolate cravings

### Release of endogenous opioid peptides

Chocolate's high fat and sugar content may stimulate the release of brain opioids leading to sensations of pleasure

### Self-medication

The high concentration of fat and carbohydrate in chocolate may increase serotonin synthesis and enhance mood. Chocolate is also high in magnesium and may be eaten to compensate  $Mg^{2+}$  deficiencies

