



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة الشهيد حمّة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakdhar EL-OUED

كلية العلوم الطبيعية والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : science biologique

Spécialité: Biochimie appliquée

THÈME

Développement de la forme gummies à base de *Withania somnifera* (Ashwagandha) et de Kéfir : étude des effets anti anxiété et anti stress

Présenté Par :

HEDDADJ Wissal

LACHRAF Imane

GHZOULA Ibtissam

Devant le jury composé de :

Présidente:

Dr. BOURAS Yassine

Université d'El-Oued

Superviseur:

Mr. KIRAM Abderrazak

Université d'El-Oued

Examinatrice:

Mme. HOUMRI nawal

Université d'El-Oued

Année universitaire: 2025/2026

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Avant tout nous remercions Allah le tout puissant, de nous avoir guidé tout au long de nos années d'études et de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage et qui nous a éclairé les voies de la science et de la connaissance et qui nous a aidé à compléter cette travail de recherche modeste.

Nos sincères remerciements sont adressés premièrement à notre encadreur **Dr. KIRAM Abderrazak**, pour avoir accepté de nous encadrer, et qui a fait pour nous un travail supplémentaire et nous a guidé lors de l'élaboration de ce travail avec ses encouragements, sa patience et ses conseils judicieux, nous la prions d'accepter nos sincères remerciements, notre profond respect et entiers dévouements. je vous remercie infiniment pour toutes les heures, les jours et les mois que vous avez passés avec patience extrême à me diriger, corriger et conseiller, tous au long de mon travail.

Nos vifs remerciements s'adressent aux membres de jury qui ont accepté d'évaluer notre travail, et d'avoir pris de son temps pour examiner ce travail.

Nos remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, et notamment à :

Nous tenons à remercier profondément à tout l'ensemble des membres du laboratoire de la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'université d'El-Oued.

Nous ne saurais omettre d'adresser nos remerciements et nos reconnaissance à tous les enseignants et Les employés de l'université ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED, pour le soutien et la formation qu'ils nous ont apportés tout au long de nos années d'études.

Un grand merci à nos parents, vous nous avez soutenu et encouragé tout au long de nos études et permis d'arriver jusque-là sans vous rien n'aurait été possible.

Enfin, tout ceci n'aurait pas été possible sans le soutien de nos familles et de nos amis, merci pour tout.

Dédicace

Au nom de Dieu, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

Louange à Dieu qui m'a accordé la réussite et m'a aidée à mener à bien ce travail après un parcours marqué par l'effort, la fatigue et les nuits de veille, au cours duquel j'ai rencontré de nombreuses difficultés et défis. La grâce de Dieu a toujours été mon premier soutien pour atteindre cette étape. À Lui reviennent éternellement la louange et la gratitude.

À mes chers parents... À ceux qui ont été le véritable soutien dans cette vie, à ceux qui ont veillé, souffert et lutté afin que je puisse poursuivre mes études et réaliser cet accomplissement, à ceux qui ont porté les difficultés de la vie avec patience et force, et dont le soutien m'a permis de surmonter les obstacles et de continuer mon chemin. À vous, toute ma reconnaissance et tout mon amour. Chaque réussite que j'obtiens est le fruit de vos sacrifices et de vos prières sincères.

À mes chers frères : Salim, Laid, Ibrahim, Mohammed Ismaïl, À ceux qui ont été un soutien tout au long de ce parcours, qui m'ont accompagnée dans les moments de fatigue et de pression, et qui ont été une source constante d'encouragement.

À mes chères sœurs : Zahra, Oum El Khier , Aya Arrahmane, À celles qui ont été proches de mon cœur, mes compagnes de route, partageant avec moi les moments d'étude et de fatigue, et qui ont contribué à mon soutien et à mon encouragement.

À mon fiancé Farhat, À celui qui m'a accompagnée dans ce parcours, m'a soutenue dans les moments difficiles et m'a encouragée jusqu'à la réalisation de ce travail.

À ma chère famille, ainsi qu'à mes neveux et nièces bien-aimés : Tesnim, Mohammed, Istabrak, Anis, Yahia, Ahmed Yacine, Oussama, Idris, Abdelhakim, et tous ceux avec qui je partage un lien de famille et d'amour. Je dédie ce travail en signe de reconnaissance et de gratitude.

À mes amis, À ceux qui ont partagé avec moi les plus beaux moments et ont été mes compagnons de route durant ce parcours.

À mes professeurs respectés, À tous ceux qui m'ont enseignée, guidée et soutenue moralement et académiquement tout au long de mes études.

Et à tous ceux qui m'ont accompagnée sur ce chemin difficile, qui ont partagé mes efforts et mes peines, et qui m'ont soutenue par un mot ou un geste bienveillant, vous faites partie de cette réussite.

Dédicace

Je ne peux que remercier **Allah** pour chaque instant de ce voyage. Grâce à Lui, j'ai pu surmonter tous les défis auxquels j'ai été confrontée.

Je dédie le fruit de cette réalisation à ceux qui, après Allah, ont eu le mérite de l'avoir réalisée.

À celui qui m'a appris qu'atteindre le sommet demande tous les efforts, et qui m'a guidée que la persévérance est la clé du succès. À mes chers parents, **Abd El Madjid** et **Yamina**, les mots ne vous rendront pas justice, pas plus que les phrases ne sauront exprimer vos efforts et vos sacrifices. Grâce à votre amour et votre soutien infinis, vos prières ont été une élévation pour moi à toutes les étapes de ma vie et après Allah, c'est grâce à vous que j'ai pu réaliser cet exploit.

Je dédie cette page à deux âmes bien-aimées dans ma vie, à mon cher frère **Mohamed** et à mes chères sœurs **Asma** et **Ikram** vous êtes la lumière qui illumine mes journées et le soutien qui me donne de la force à chaque étape de ma vie. Merci pour vos encouragements et vos paroles positives dont j'avais besoin dans les moments difficiles.

À mes chers amis, qui ont fait partie intégrante de mon parcours académique, grâce aux moments de joie et de soutien mutuel, vous êtes les compagnons les plus merveilleux et les plus riches de cœur.

À mon encadreur **Mr. KARAM Abderrazak**, je vous remercie pour tout ce que vous avez fait pour moi. J'espère être toujours à la hauteur de vos attentes et continuer à bénéficier de votre vaste expérience.

À mes distingués professeurs, qui ont partagé avec moi les connaissances qu'ils possèdent et la sagesse qu'ils ont acquise. Je n'oublierai jamais les efforts que vous avez déployés pour élever mon niveau de connaissances et me motiver à exceller.

À tous les membres de ma famille, vous êtes le véritable cadeau de ma vie. Je ne peux exprimer avec des mots combien je vous apprécie et vous aime tous. J'espère être toujours à la hauteur de vos attentes et une raison de votre bonheur.

À tous ceux qui ont adopté mon ambition de leurs propres mains et ont contribué à mon parcours académique par leur soutien et leur motivation, je vous resterai éternellement reconnaissante.

Dédicace

Au nom de Dieu, le Clément, le Miséricordieux. Louange à Dieu, par la grâce duquel les bonnes actions s'accomplissent, et qui m'a accordé le succès et m'a aidé à mener à bien cette humble œuvre.

À ceux qui, après Dieu, sont la raison de mon existence et de chaque étape de ma vie, à ceux qui ont empli ma vie d'amour, de sacrifice et de générosité sans rien attendre en retour, je dédie cette œuvre avec fierté et gratitude.

À ma très chère mère, à ce cœur qui ne trouve de repos que dans mon réconfort, à tes prières qui m'accompagnent à chaque instant, à ton infinie tendresse et à tes innombrables sacrifices, cette œuvre est le fruit de tes prières, de ton labeur et de ta patience. À toi, j'offre toute ma gratitude, mon amour et mes prières pour que Dieu te protège et te bénisse abondamment.

Et à mon très cher père, à ton soutien indéfectible et à la force qui me guide, les mots de remerciement sont impuissants à exprimer la place que tu occupes dans mon cœur. Tu as toujours été mon modèle et mon principal soutien à chaque étape de ma vie. Cette réussite est le fruit de ton travail acharné, de ton soutien et de tes sacrifices. Je prie pour que Dieu te donne une longue vie, te garde en bonne santé et reconnaisse toutes tes contributions à la mesure de tes bonnes actions.

À mes frères et sœurs,
qui avez été mon soutien et ma force, partageant avec moi les joies et les épreuves, et qui avez joué un rôle essentiel dans ce succès, je vous dédie cet ouvrage avec tout mon amour et ma loyauté.

À mes chers amis, piliers de mes études, qui m'avez apporté un soutien psychologique et moral inestimable, je vous offre cet ouvrage avec une profonde reconnaissance.

À ma famille élargie, qui n'a jamais hésité à m'offrir son soutien, ses encouragements et ses prières, merci d'avoir toujours été cette étreinte chaleureuse qui m'a donné la force de persévérer.

J'adresse également mes sincères remerciements à tous ceux qui m'ont soutenu, de près ou de loin, dans la rédaction de ces mémoires, que ce soit par un mot gentil, un conseil avisé ou un soutien moral qui a grandement contribué à leur aboutissement.

En conclusion, je prie Dieu de faire que cette œuvre soit accomplie uniquement pour Sa gloire, et de récompenser au mieux tous ceux qui ont contribué à son succès.

Résumé

Résumé

Cette étude vise à atténuer l'anxiété et le stress par la conception d'un produit naturel innovant, sous forme de gummies fonctionnelles composées de l'extrait de la plante *Withanai somnifera* (Ashwagandha), de kéfir et de poudre de dattes, dans le respect des normes de sécurité alimentaire et grâce à la sélection d'ingrédients reconnus pour leur aptitude à la consommation humaine, les ingrédients étant issus de la région de Biskra et El Oued.

Sur le plan méthodologique, nous avons procédé à l'extraction de la plante *Withanai somnifera*, sur laquelle nous avons réalisé des tests phytochimiques, ainsi qu'à la préparation du kéfir en vue de son utilisation. Nous avons ensuite constitué les lots expérimentaux à partir de 19 rats répartis en six groupes (témoin, stressé, traité par l'extrait, traité par le kéfir, traité par le mélange et traité par le médicament de référence). L'effet du traitement a été évalué au moyen des tests comportementaux, des analyses sanguines (FNS et dosage du cortisol), ainsi que d'une étude statistique de l'acceptabilité du complément alimentaire sous forme de gummies.

Les tests phytochimiques ont révélé un rendement d'extraction de 6 %, une teneur en polyphénols totaux de $0,163 \pm 0,011$ µg EAG/mg Ex, en flavonoïdes de $0,197 \pm 0,004$ µg Equ/mg Ex et en tanins condensés de $0,353 \pm 0,011$ mg ECT/mL Ex, ainsi qu'une forte activité antioxydante (IC_{50} DPPH = $0,134 \pm 0,013$ µg/mL ; FRAP = $86,58 \pm 0,62$ mg EAA/g Ex). Les tests comportementaux ont montré une nette amélioration chez le lot traité par le mélange, avec une réduction du temps d'immobilité (28 s) et une augmentation des temps de natation (142 s) et de présence dans les bras ouverts (142 s). Concernant les analyses hématologiques (FNS), le lot traité par le mélange a présenté des valeurs proches des normes physiologiques, avec un taux de leucocytes de $7,39 \times 10^9/L$, de lymphocytes de $2,50 \times 10^9/L$, de granulocytes de $2,05 \times 10^9/L$ et de cellules Mid de $0,69 \times 10^9/L$, témoignant d'une normalisation des paramètres immunitaires par rapport au lot stressé (leucocytes $10,70 \times 10^9/L$). Le dosage du cortisol a confirmé une diminution marquée chez le lot traité par le mélange (28,66 nmol/L contre 46,7 nmol/L chez le lot stressé). Enfin, l'évaluation sensorielle a révélé une bonne acceptabilité des gummies, avec un taux d'acceptation global de 84 % et une intention d'achat de 74 %.

En conclusion, ces résultats confirment que l'association de *Withanai somnifera* (Ashwagandha) et du kéfir, formulée sous forme de gummies fonctionnelles, constitue une approche naturelle prometteuse pour atténuer l'anxiété et le stress, ouvrant des perspectives intéressantes pour le développement de compléments alimentaires anti-stress à base de ressources locales.

Mots clés : *Withanai somnifera* (Ashwagandha), Kéfir, gummies fonctionnelles, stress, Anxiété, poudre de dattes Degla Beida.

Abstract

This study aims to alleviate anxiety and stress through the design of an innovative natural product, in the form of functional gummies composed of *Withanai somnifera*. plant extract, kefir, and Degla Beida date powder , free of side effects, with all ingredients sourced from the Biskra et El Oued region.

Methodologically, we first carried out the extraction of the *Withanai somnifera* plant, on which we performed phytochemical tests, as well as the preparation of kefir for its use. We then established the experimental groups from 19 rats divided into six lots (control, stressed, treated with the extract, treated with kefir, treated with the mixture, and treated with the reference drug). The effect of the treatment was evaluated through behavioral tests, blood analyses (complete blood count CBC and cortisol measurement), as well as a statistical study of the acceptability of the dietary supplement in gummy form.

The phytochemical tests revealed an extraction yield of 6 %, a total polyphenol content of $0.163 \pm 0.011 \mu\text{g GAE/mg Ex}$, a flavonoid content of $0.197 \pm 0.004 \mu\text{g QE/mg Ex}$, and a condensed tannin content of $0.353 \pm 0.011 \text{ mg CE/mL Ex}$, as well as a strong antioxidant activity (DPPH $\text{IC}_{50} = 0.134 \pm 0.013 \mu\text{g/mL}$; FRAP = $86.58 \pm 0.62 \text{ mg AAE/g Ex}$). The behavioral tests showed a clear improvement in the group treated with the mixture, with a reduction in immobility time (28 s) and an increase in swimming time (142 s) and time spent in the open arms (142 s). Regarding the hematological analyses (CBC), the group treated with the mixture displayed values close to the physiological norms, with a leukocyte count of $7.39 \times 10^9/\text{L}$, a lymphocyte count of $2.50 \times 10^9/\text{L}$, a granulocyte count of $2.05 \times 10^9/\text{L}$, and a Mid-cell count of $0.69 \times 10^9/\text{L}$, reflecting a normalization of the immune parameters compared to the stressed group (leukocytes $10.70 \times 10^9/\text{L}$). The cortisol measurement confirmed a marked decrease in the group treated with the mixture (28.66 nmol/L versus 46.7 nmol/L in the stressed group). Finally, the sensory evaluation revealed good acceptability of the gummies, with an overall acceptance rate of 84 % and a purchase intention of 74 %.

In conclusion, these results confirm that the combination of *Withanai somnifera* and Kefir, formulated as functional gummies, represents a promising natural approach to alleviating anxiety and stress, opening up interesting perspectives for the development of anti-stress dietary supplements based on local resources.

Keywords: *Withanai somnifera* , Kefir , functional gummies, Anxiety, stress, Degla Beida date powder.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى المساهمة في التخفيف من اضطرابات القلق والتوتر من خلال تطوير منتج وظيفي طبيعي مبتكر في شكل حلى الجلاتينية (Gummies)، يعتمد في تركيبه على مستخلص جذور الأشواغاندا (*Withanai somnifera*) والكفير ومسحوق التمر، مع الحرص على توفير بديل طبيعي آمن ذي قيمة صحية مضافة، بالاعتماد على موارد محلية مستمدة من منطقتي بسكرة والوادي.

شملت منهجية العمل، استخلص نبات الأشواغاندا (*Withanai somnifera*)، وإجراء الاختبارات الكيميائية النباتية، ووتحضير الكفير. ثم شكلنا مجموعات تجريبية من 19 فأراً، قُسمت إلى ست مجموعات (مجموعة ضابطة، مجموعة مُعرّضة للإجهاد، مجموعة مُعالجة بالمستخلص، مجموعة مُعالجة بالكفير، مجموعة مُعالجة بالمزيج، ومجموعة مُعالجة بالدواء المرجعي). قُيِّم تأثير العلاج باستخدام اختبارات سلوكية، وتحاليل دم (تعداد الدم الكامل fns ومستويات الكورتيزول)، ودراسة إحصائية لمدى تقبّل المكمل الغذائي على شكل حلى.

أظهرت الاختبارات الكيميائية النباتية نسبة استخلاص بلغت 6%، ومحتوى إجمالي من البوليفينولات قدره 0.011 ± 0.163 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ مستخلص، ومحتوى من الفلافونويدات قدره 0.004 ± 0.197 ميكروغرام مكافئ الكيرسيتين/ملغ مستخلص، ومحتوى من التانينات المكثفة قدره 0.011 ± 0.353 ملغ مكافئ الكاتيون/مل مستخلص، بالإضافة إلى نشاط قوي مضاد للأكسدة (DPPH) $IC_{50} = 0.134 \pm 0.013$ ميكروغرام/مل؛ $FRAP = 86.58 \pm 0.62$ ملغ مكافئ حمض الأسكوربيك/غرام مستخلص). وأظهرت الاختبارات السلوكية تحسناً واضحاً في المجموعة المعالجة بالمزيج، مع انخفاض في مدة الخمول (28 ثانية) وزيادة في مدة السباحة (142 ثانية) والوقت الذي يقضيه الحيوان في الأذرع المفتوحة (142 ثانية). فيما يتعلق بتحاليل الدم (تعداد الدم الكامل)، أظهرت المجموعة التي عولجت بالمزيج قيمة قريبة من المعدلات الطبيعية، حيث بلغ عدد الكريات البيضاء 7.39×10^9 /لتر، وعدد الخلايا الليمفاوية 2.50×10^9 /لتر، وعدد الخلايا المحببة 2.05×10^9 /لتر، وعدد الخلايا المتوسطة 0.69×10^9 /لتر، مما يعكس تطبيعاً للمعايير المناعية مقارنةً بالمجموعة المعرضة للإجهاد (10.70×10^9 /لتر من الكريات البيضاء). وأكد قياس الكورتيزول انخفاضاً ملحوظاً في المجموعة التي عولجت بالمزيج (28.66 نانومول/لتر مقابل 46.7 نانومول/لتر في المجموعة المعرضة للإجهاد). وأخيراً، كشف التقييم الحسي عن قبول جيد للحلى، حيث بلغت نسبة القبول الإجمالية 84% ونسبة نية الشراء 74%.

وتؤكد النتائج المتحصل عليها الإمكانيات الواعدة للحلى الهلامية المدعمة بالأشواغاندا والكفير كمنتج وظيفي طبيعي يمكن أن يساهم في التخفيف من القلق والتوتر وتحسين الحالة العامة للكائن الحي، كما تفتح

آفاقاً مستقبلية لتطوير منتجات صحية مبتكرة تعتمد على تثمين الموارد الطبيعية المحلية وتعزيز توظيفها في مجال الصحة والرفاه.

الكلمات المفتاحية: الأشواغاندا (*Withanai somnifera*)، الكفير، الحلوى الجلاتينية، القلق، التوتر، مسحوق التمر دقلة بيضاء.

Liste des figures

Figure 01: Quelques plantes communes de la famille des Solanacées.....	14
Figure 02: Répartition de W. somnifera (Les points jaunes indiquent la répartition des plante	16
Figure 03: Caractéristiques botaniques de l'ashwagandha (<i>Withanai somnifera</i> L.).....	19
Figure 04: Composition chimique de <i>Withanai somnifera</i> L.	20
Figure 05: Le kéfir	26
Figure 06: Genres de bactéries/levures présents dans les grains de kéfir.	28
Figure 07 : Les gummies	35
Figure 08 : Photo de l'échantillon de racine d'Ashwagandha provenant de la ferme EL-Kiram Biskra	49
Figure 09 : Kéfir d'eau et kéfir de lait : deux photos réelles de boissons probiotiques fermentées naturellement	50
Figure 10 : Schéma du protocole de préparation de l'extrait alcoolique des racines de <i>Withanai somnifera</i> L. par macération.....	52
Figure 11 : Représente un schéma du protocole expérimental in vivo.....	64
Figure 12: Procédure de fabrication des gummies à base de ashwagandha et de kéfir.....	66
Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage de polyphénols totaux.	70
Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes	72
Figure 15: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage de tanins condensés	74
Figure 16: Gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique.....	75
Figure 17: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test FRAP.....	77
Figure 18 : Evolution du moyenne de poids corporels des rats témoins et traités et stressées pendant le traitement	79

Figure 19 : Evolution de la prise alimentaire quotidienne des rats témoins et traités et stressés pendant le traitement	80
Figure 20 : Temps moyenne de natation et d'immobilité et d'escalade pour chaque lot et les deux tests	82
Figure 21: Moyennes de temps passé dans les bras fermée et ouvert au deux test du labyrinthe en croix surélevée et pour chaque lots.....	85
Figure 22 : Moyenne de nombre d'entrées dans les bras ouverts aux deux tests de labyrinthe en croix surélevée pour chaque lots	86
Figure 23 : Résultats de FNS chez les rats de lots témoin et stressée et lots traités	88
Figure 24 : Résultat d'hormone cortisol chez les rats témoin et stressée et traités	90
Figure 25 : Répartition de l'intention d'achat des gummies fonctionnelles (<i>Withania somnifera</i> L+ kéfir) au sein du panel de dégustation (n = 50).....	92

Liste des tableaux

Tableau 01: La classification taxonomique de <i>Withanai somnifera</i>	17
Tableau 02 : Composition standard d'une formulation gummy et rôles fonctionnels des composants	38
Tableau 03 : Comparaison des principaux agents gélifiants utilisés dans la formulation des gummies.	39
Tableau 04 : Résultats de l'analyse chimique des métabolites secondaires de l'ashwagandha.	68
Tableau 05 : Rendement de l'extraction méthanolique de l'ashwagandha (<i>Withanai somnifera</i> L).	69
Tableau 06 : Teneur totale en polyphénols de l'extrait de racine d'ashwagandha (<i>Withanai somnifera</i> L.).....	71
Tableau 07: Teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait de <i>Withanai somnifera</i> L	72
Tableau 08: Teneur en tanins condensés dans l'extrait d' <i>Withanai somnifera</i> L	74
Tableau 09: Activité antioxydante de l'extrait Withanolides d' <i>Withanai somnifera</i> L et de l'acide ascorbique	75
Tableau 10: Résultats de l'activité antioxydante de l'extrait withanolides d' <i>Withana somnifera</i> L et de l'acide ascorbique.	77
Tableau 11 : Variation du poids corporels des rats témoins et traités et stressées entre le début et la fin de traitement	78
Tableau 12 : variation de la prise alimentaire des rats témoin et traités et stressées entre le début et la fin de traitement	79
Tableau 13 : Scores moyens et taux d'acceptation des sept critères sensoriels des gummies (n = 50)	91

Liste des abréviations

ACTH : Hormone adrénocorticotrope

AG : Acide gallique

ATCC : American Type Culture Collection

CCK : Cholécystokinine

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

COX-2 : Cyclooxygénase-2

CRH : Corticotropin-Releasing Hormone

CT : Catéchine

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (radical libre DPPH)

EAG : Équivalent acide gallique

EC₅₀ : Effective Concentration (concentration efficace 50 %)

EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

GABA : Acide gamma-aminobutyrique

H1 : Récepteur histaminique H1

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50 %

mg EAA/g Ex : Milligrammes d'équivalent acide ascorbique par gramme d'extrait

NMRI : Naval Medical Research Institute

R² : Coefficient de détermination

TFC : Total Flavonoid Content (teneur en flavonoïdes totaux)

TOC : Trouble obsessionnel compulsif

TSPT : Trouble de stress post-traumatique

µg EAG/mg Ex : Microgrammes d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec

µg EQu/mg Ex : Microgrammes d'équivalent quercétine par milligramme d'extrait

Sommaire

Remerciements.....	I
Dédicace.....	III
Dédicace.....	IV
Résumé.....	V
Résumé.....	VI
Liste des figures	IX
Liste des tableaux.....	XI
Liste des abréviations	XII
Sommaire.....	XIII
Introduction Générale.....	1

Première partie: Synthèse biobiographique

Chapitre I: Anxiété et Stress

I . Anxiété et Stress	6
I.1. Stress	6
I.1.1. Types de stress (aigu / chronique).....	6
I.2. Anxiété.....	7
I.2.1.Types d'anxiété	7
I.2.1.1. Trouble de séparation.....	7
I.2.1.2. Trouble généralisée	8
I.2.1.3 .Trouble obsessionnel compulsif	8
I.2.1.4 .Trouble pathologique	8
I.2.1.5. Trouble de stress post-traumatique	8
I.2.2. Symptômes de l'anxiété.....	9
I.2.2.1. Symptômes psychologiques.....	9
I.2.2.2. Symptômes physique	9
I.2.2.3. Symptômes physiologiques	9
I.2.3. Causes de l'anxiété.....	9
I.2.3.1.Traumatisme de naissance	10
I.2.3.2. Anxiété de séparation (sevrage)	10
I.2.3.3. Anxiété de castration.....	10
I.2.3.4. Socialisation.....	10
I.2.4.Physiopathologie	10

I.2.5.Traitement de l'anxiété	11
I.2.5.1. Médicaments	12
I.2.5.2. Herbes médicinales	12

Chapitre II: *Withania somnifera* (L.)

II.1.Famille des Solanacées (Solanaceae)	14
II.2. Genre <i>Withania</i>	14
II.2.1.Répartition géographique du genre.....	15
II.2.1.1.Dans le monde.....	15
II.2.1.2. En Algérie	16
II.3. <i>Withania somnifera</i> (Ashwagandha).....	17
II.3.1.Classification	17
II.3.2. Description botanique de <i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal	17
II.3.3. Composition chimique de <i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal	19
II.3.4. Activités biologiques de <i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal.....	20
II.3.4.1. Activité antibactérienne et antifongique	20
II.3.4.2. Activité anti-stress (anxiolytique).....	21
II.3.4.3. Activité antioxydante	21
II.3.4.4. Activité anti-inflammatoire.....	21
II.3.4.5. Activité antitoxique.....	21
II.3.4.6. Activité antidiabétique	21
II.3.5. Propriétés thérapeutiques de <i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal	22

Chapitre III:Le kéfir (Complexe probiotique)

III.1.Historique et définition du kéfir.....	25
III.1.1. Origine et découverte du kéfir.....	25
III.1.2. Définition	25
III.1.3. Concept de complexe probiotique.....	26
III.2. Composition microbiologique du kéfir	27
III.2.1. Bactéries lactiques.....	27
III.2.2. Levures	28
III.2.3. Structure des grains de kéfir et kéfirane	29
III.3.Sources et modes de préparation du kéfir	29
III.3.1. Kéfir de lait.....	29
III.3.2. Kéfir d'eau	30

III.3.3. Procédé de fermentation du kéfir	30
III.3.4. Conditions optimales de culture du kéfir	30
III.4. Effets du kéfir sur le système immunitaire	31
III.4.1. Stimulation de l'immunité innée.....	31
III.4.2. Activation de l'immunité adaptative.....	31
III.4.3. Effet anti-inflammatoire et régulation des cytokines	31
III.5. Relation entre le kéfir et l'anxiété	31
III.5.1. Axe intestin-cerveau (Gut-Brain Axis)	32
III.5.2. Régulation du cortisol	32
III.5.3. Production des neurotransmetteurs (GABA, sérotonine).....	32
III.5.4. Données expérimentales sur l'effet anxiolytique.....	32
III.6. Applications thérapeutiques et perspectives	33

Chapitre IV: GUMMIES

IV.1 Définition des Gummies	35
IV.2. Classification des gummies	35
IV.3. Catégories des gummies	36
IV.4. Composition des Gummies.....	37
IV.4.1. Vue d'ensemble de la composition.....	37
IV.4.2. Les agents gélifiants.....	38
a) La gélatine animale.....	38
b) La gélatine végétale (halal)	39
c) La pectine et l'agar-agar.....	39
IV.4.3. Les édulcorants naturels.....	39
IV.4.4. L'eau et les autres excipients.....	40
IV.5. Procédé de fabrication des Gummies	40
IV.6. Utilisations des gummies.....	41
IV.7. Intérêt des Gummies	42
a) Observance et acceptabilité patient.....	42
b) Populations cibles	42
c) Avantages pratiques pour le consommateur	42
d) Croissance du marché	43
IV.8. Avantages et limites des Gummies.....	43

IV.8.1. Avantages.....	43
a) Flexibilité de formulation et potentiel d'application.....	43
b) Masquage du goût et renforcement de l'observance.....	43
IV.8.2. Limites	44
a) Limitation de dose et instabilité des principes actifs	44
b) Contrôle qualité et durée de conservation	44
IV.9. Argumentaire du choix de la forme Gummies	44
IV.9.1. Justification du choix des excipients.....	45
IV.10. Note sur l'incorporation du Kéfir.....	45
IV.11. Objectifs de notre formulation.....	46

Deuxième partie:Partie expérimentale

Chapitre I:Matériel et méthodes

I.1. Matériels biologiques	49
I.1.1. Ashwaganda.....	49
I.1.2 Kéfir	49
I.1.3 RATS	50
I.2. Méthodes	50
I.2.1. Séchage et broyage de la plante	50
I.2.2 .Préparation de l'échantillon	51
I.2.2.1 Preparation de échantillon d'Ashwagandha	51
I.2.2.2 Préparation de l'échantillon de kéfir.....	51
I.2.3. Rendement de l'extrait brut	51
I.2.4.Tests phytochimiques.....	53
I.2.5. Analyses quantitatives	54
I.2.5.1. Dosage de polyphénols totaux.....	54
I.2.5.2. Dosage des flavonoïdes	54
I.2.5.3. Dosage des tanins condensés.....	55
I.2.6. Activités biologiques	55
I.2.6.1. Activités antioxydant (test DPPH).....	55
I.2.6.1.1 Mode opératoire	56
I.2.6.2. Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	56
I.7. Etude in vivo.....	57
I.7.1 Constitution des groupes expérimentaux	57

I.7.2. Mesures physiologiques.....	58
I.7.3. Protocole d'administration des traitements chez les rats expérimentaux	58
I.7.4. Tests comportementaux	59
I.7.4.1. Test de nage forcée (Forced Swimming Test) (FST)	59
I.7.4.1.1. Principe du test	59
I.7.4.1.2. Dispositif expérimental.....	59
I.7.4.1.3. Procédure expérimentale	59
I.7.4.2. Test du labyrinthe en croix surélevée (EPM)	61
I.7.4.2.1. Principe du test	61
I.7.4.2.2. Dispositif expérimental.....	61
I.7.4.2.3. Procédure expérimentale	62
I.7.5. Standardisation et contrôle expérimental.....	62
I.7.6 Procédure de sacrifice des animaux et de prélèvement sanguin	62
I.7.6.1. Sacrifice des animaux et prélèvement sanguin	62
I.7.7. Analyses hématologiques et hormonale.....	63
I.7.8. Analyse statistique	63
I.8. Formulation et préparation des gummies fonctionnelles à base de <i>Withania somnifera</i> et de kéfir	64
I.9.Évaluation sensorielle des gummies.....	66
CHAPITRE II:Résultat et discusiun	
II.1. Analyse chimique des métabolites secondaires de l'ashwagandha	68
II.2. Rendement d'extraction	69
II.3. Analyse quantitative	70
II.3.1 Dosage des polyphénols totaux	70
II.3.2 Dosage des flavonoïdes	72
II.3.3 Dosage des tanins condensés.....	73
II.4 Activité biologiques	75
II.4.1 Activité antioxydant (test DPPH)	75
II.4.2 Activité antioxydant (test FRAP)	76
II.5. Paramètres physiologique In vivo	78
II.5.1. Evaluation du poids corporel durant le traitement.....	78
II.5.2. Evolution de la consommation d'aliments au cours du traitement	79
II.6. Etude comportementale In vivo	81

II.6.1. Test de nage forcée (FST)	81
II.6.2. Test du labyrinthe en croix surélevée (EPMT).....	85
II.7. Réalisation d'analyses médicales.....	88
II.7.1. Analyse du numération de la formule sanguine	88
II.7.2. Analyse d'hormone cortisol	90
II.8. Résultats de l'évaluation sensorielle des gummies à base de <i>Withanai somnifera</i> . et Kéfir	91
Conclusion	94
Références.....	98
Annexes.....	108

Introduction Générale



Introduction

L'anxiété et le stress constituent des troubles psychologiques largement répandus qui engendrent une souffrance considérable et réduisent la qualité de vie des patients ainsi que leurs performances sociales **(Bosc, 2000)**. Selon l'Organisation mondiale de la santé, les troubles anxieux représentent les troubles mentaux les plus fréquents au monde : en 2019, environ 301 millions de personnes en souffraient, dont 58 millions d'enfants et d'adolescents **(OMS, 2023)**. Lorsqu'ils ne sont pas pris en charge, ces troubles peuvent évoluer vers des formes plus graves telles que la dépression qui touche près de 280 millions de personnes, soit environ 3,8 % de la population mondiale pouvant conduire dans les cas extrêmes au suicide, responsable de près de 700 000 décès chaque année **(OMS, 2019)**.

Pour atténuer les symptômes de l'anxiété et du stress, les personnes concernées ont souvent recours à des médicaments anxiolytiques et antidépresseurs, notamment les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine, de la noradrénaline et de la dopamine **(Goethe et al., 2007)**. Ces molécules agissent principalement en inhibant les transporteurs impliqués dans la recapture des monoamines, mécanisme essentiel à la modulation de l'humeur et des états émotionnels **(Dobrek et Glowacka, 2023)**. Cependant, leur utilisation, en particulier à long terme, entraîne de nombreux effets secondaires, parmi lesquels des éruptions cutanées, une hypertension artérielle et un risque accru de pensées suicidaires **(Sathyanarayana Rao et Yeragani, 2009)**.

Face au nombre croissant de personnes souffrant d'anxiété et de stress, le besoin d'explorer des traitements naturels et sûrs s'impose de plus en plus. Ces dernières années, le recours aux médecines alternatives et complémentaires, notamment l'utilisation des plantes médicinales comme alternative aux médicaments de synthèse, connaît un essor considérable **(Saxena et al., 2023)**. C'est dans ce cadre que notre étude propose une solution biologique innovante destinée en premier lieu à atténuer l'anxiété et le stress, et en second lieu à contribuer à la prévention des états dépressifs.

Dans cette étude, nous avons retenu la plante *Withanai somnifera* (Ashwagandha) comme principe actif central de notre protocole de traitement complémentaire, car elle représente une étape importante vers l'amélioration de la santé mentale et générale. Utilisée depuis des millénaires dans la médecine ayurvédique, cette plante a suscité de multiples intérêts dans les domaines alimentaire et pharmaceutique. Avec le développement de la recherche, des propriétés biologiques remarquables y ont été découvertes, car elle constitue une source précieuse de composés actifs, notamment les withanolides, dotés de propriétés adaptogènes,

anxiolytiques et antioxydantes (**Mikulska et al., 2023**). Parmi ses bienfaits les plus importants, nous citons la régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, la réduction du cortisol, l'atténuation de l'anxiété et du stress, ainsi que l'amélioration de l'humeur (**Chandrasekhar et al., 2012**).

Les bactéries jouent également un second rôle essentiel dans ce protocole de traitement, à savoir les bactéries probiotiques contenues dans le kéfir, micro-organismes vivants administrés en quantité suffisante pour apporter un bienfait sur la santé. Elles jouent un rôle important dans la réduction de l'inflammation, le maintien de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) et la préservation de l'intégrité de la barrière intestinale (**Ait-Belgnaoui et al., 2012**). Ces dernières années, des études ont montré que les probiotiques constituent un réseau de communication entre l'intestin et le cerveau, en améliorant la microflore intestinale et en régulant la production de neurotransmetteurs tels que la sérotonine, la dopamine et le cortisol, ce dernier étant étroitement lié au contrôle de l'humeur (**Liang et al., 2015**).

Ainsi, l'association de nos deux composants l'extrait de *Withanai somnifera* (Ashwagandha) et le kéfir nous amène à poser la problématique suivante : si cette combinaison était formulée sous forme de complément alimentaire, quel serait son effet sur l'anxiété et le stress ? Quelle forme galénique serait la plus appropriée pour la délivrer ? Le format de gummies fonctionnelles conviendrait-il à cette association ? Et enfin, serait-il possible de préserver la viabilité et l'efficacité des probiotiques du kéfir au sein d'une telle matrice ?

Dans ce cadre, notre travail s'inscrit dans la conception d'un produit complément alimentaire innovant destiné à atténuer l'anxiété et le stress, se présentant sous la forme de gummies fonctionnelles une forme galénique pratique, agréable et accessible à toutes les catégories de consommateurs. Ce produit associe l'extrait de *Withanai somnifera* (Ashwagandha) et le kéfir, auxquels s'ajoute la poudre de dattes Degla Beida de la région d'El Oued comme édulcorant naturel, l'ensemble des ingrédients étant issu de ressources locales algériennes.

Notre plan de travail s'articule autour de deux parties principales précédées d'une introduction. La première partie présente une synthèse bibliographique divisée en trois chapitres : le premier chapitre est consacré à tout ce qui touche à l'anxiété et au stress, le deuxième chapitre aborde les informations générales sur la plante *Withanai somnifera* (Ashwagandha) , et le troisième chapitre est consacré au kéfir (complexe probiotique). La seconde partie concerne le volet expérimental, comprenant deux chapitres : la première porte sur le matériel et

les méthodes de notre étude, et le second est consacré à la présentation des résultats expérimentaux et à leur discussion. Enfin, nous avons clôturé notre travail par une conclusion qui résume les principaux résultats obtenus, accompagnée de perspectives venant compléter cette étude.

Premire partie
Synthèse biobiographique

Chapitre I
Anxiété et Stress



I . Anxiété et Stress

I.1. Stress

Est un état qui survient lorsque les exigences ou les défis de l'environnement dépassent la capacité de l'individu à s'adapter ou à faire face, entraînant des modifications psychologiques et physiologiques susceptibles d'affecter négativement sa santé physique et mentale **(Salleh., 2008)**

C'est un état qui affecte les réponses physiologiques et qui est associé à des changements au niveau du corps. **(Bhardwaj., 2022)**

I.1.1. Types de stress (aigu / chronique)

- Stress aigu

Il s'agit d'une réponse rapide et de courte durée à une situation urgente ou menaçante. Il active la réaction dite de « lutte ou fuite » (Fight-or-Flight Response). Ses symptômes disparaissent généralement lorsque la situation stressante prend fin.

- Le stress aigu épisodique

est un état caractérisé par la répétition fréquente d'épisodes de stress aigu, dans lequel l'individu vit un cycle continu d'événements courts et stressants. Cette succession rapprochée de situations stressantes le maintient dans un état de tension quasi permanent entre chaque épisode, sans lui laisser le temps de récupérer pleinement. À la longue, cette forme de stress peut épuiser les ressources de l'organisme et favoriser l'apparition de troubles anxieux. **(Epel.E.,2018)**

- Stress chronique

Il résulte d'une exposition répétée ou continue à des facteurs de stress pendant une longue période, entraînant une sécrétion prolongée d'hormones du stress, notamment le cortisol. **(Kairys .N .,2024) .**

- Le stress traumatique

est un stress psychologique qui apparaît après la survenue d'un événement très grave (tel qu'un accident, des violences ou une menace pour la vie). Il affecte le fonctionnement du cerveau et du corps et provoque un état de tension et de peur persistant, même après la fin de

l'événement. Lorsqu'il perdure dans le temps, il peut évoluer vers un état de stress post-traumatique (ESPT), caractérisé par des reviviscences, une hypervigilance et des troubles anxieux marqués. **(Yehuda .R .,2024)**

Parmi ces différentes formes, c'est le stress chronique qui constitue le cadre de notre étude, car il représente le modèle le plus pertinent pour évaluer l'efficacité d'un traitement anti-stress sur le long terme. Dans notre travail expérimental, ce type de stress a été induit chez les rats par une exposition lumineuse continue, entraînant une activation prolongée de l'axe HPA et une élévation soutenue du cortisol.

I.2. Anxiété

Est un phénomène couramment rencontré, caractérisé par une sensation de crainte face à un danger imminent, accompagnée de symptômes neurovégétatifs et d'un inconfort, et elle fait partie intégrante de la condition humaine. (American psychiatric Association.,2022). Selon Abdessatar l'anxiété comme un état émotionnel douloureux acquis suite à l'exposition à des situations et expériences de vie spécifiques. Cette émotion se distingue d'autres sentiments désagréables comme la frustration ou la colère par ses modifications physiologiques internes, clairement manifestées par l'individu, ainsi que par des manifestations externes telles que les expressions faciales et le comportement. **(Abdessatar.,2002).**

L'anxiété est une réponse psychologique à une menace anticipée ou à un danger redouté ; elle est liée à des aspects personnels internes de l'individu, car elle exprime une signification subjective qui prend naissance de l'intérieur et est projetée par la personne sur le monde extérieur qui l'entoure. **(Dadds et Barrett .,2001).**

I.2.1.Types d'anxiété

L'anxiété se manifeste sous de nombreuses formes, et il est essentiel de distinguer l'anxiété normale et saine de l'anxiété anormale et pathologique. Voici quelques explication:

I.2.1.1. Trouble de séparation

Le type de trouble anxieux le plus fréquent chez l'enfant est une anxiété excessive et inappropriée liée à la séparation d'avec les personnes importantes de sa vie **(Dadds et Barrett.,2001)**. Cette anxiété apparaît avant la puberté. Zebdi et Legner ont mené une enquête auprès d'enfants souffrant d'anxiété de séparation ou d'hyperanxiété et ont constaté que 46 % d'entre eux souffraient d'un trouble psychologique lié à des problèmes internes **(Zebdi et Legner.,2017).**



I.2.1.2. Trouble généralisée

Le trouble d'anxiété généralisée, également appelé « trouble anxieux », se caractérise par une anxiété et une tension excessive, incontrôlables et chroniques, Il est associé à des situations ordinaires et réalistes (**Demartini et al.,2019**). Le trouble d'anxiété généralisée est l'un des troubles mentaux les plus fréquents, touchant jusqu'à 20 % des adultes chaque année. Ce trouble provoque de la peur, de l'anxiété et une sensation persistante de fatigue extrême (**Munir et Takov.,2022**).

I.2.1.3 .Trouble obsessionnel compulsif

Le trouble obsessionnel-compulsif (TOC) est une affection mentale grave et invalidante caractérisée par des obsessions et des compulsions, qui touche environ 2 % de la population. Le TOC apparaît généralement au début de l'adolescence (**Rector et al.,2016**). Selon Dadds et Barrett Le trouble obsessionnel-compulsif (TOC) se caractérise par des obsessions et des compulsions (comportements répétitifs, comme le lavage des mains). Vos obsessions peuvent concerner la contamination personnelle par des germes, la peur de nuire à vos proches, des images d'abus, ou encore des sujets à caractère sexuel ou religieux (**Dadds et Barrett.,2001**).

I.2.1.4 .Trouble pathologique

est une forme d'anxiété persistante et intense qui accompagne une personne pendant une longue période. Elle se manifeste généralement par des changements de comportement ou de mode de vie, et la personne concernée peut ne pas en prendre conscience avant qu'elle ne se manifeste par une sensation diffuse survenant après un laps de temps considérable. L'anxiété pathologique se caractérise par son caractère vague et l'absence de cause clairement identifiable ; son intensité et sa profondeur varient d'une personne à l'autre. Souvent, la personne ignore les véritables causes de son anxiété. (**Zatar.,2010**).

I.2.1.5. Trouble de stress post-traumatique

Le trouble de stress post-traumatique (TSPT) est un diagnostic de santé mentale plus fréquent chez les réfugiés et les demandeurs d'asile que dans la population générale. Ce trouble nécessite une prise en charge spécialisée et un soutien psychosocial important (**Izabelle.,2020**). Il s'agit d'un trouble anxieux chronique résultant d'un événement grave et soudain ayant mis en danger la vie ou la sécurité physique : catastrophes naturelles, attentats à la bombe, guerre, viol ou toute autre agression, accident de voiture, etc. Le patient peut avoir un lien personnel avec le décès ou l'accident d'une autre personne, ou en avoir été témoin (**Pelissolo.,2012**).



I.2.2. Symptômes de l'anxiété

I.2.2.1. Symptômes psychologiques

Sentiments de peur, d'appréhension, d'anxiété, de tension, d'irritabilité, d'impatience et de stress psychologique et de panique (O'Reilly, 2011).

I.2.2.2. Symptômes physique

- ❖ Transpiration excessive.
- ❖ FGG
- ❖ Difficultés respiratoires ou essoufflement..
- ❖ Bouche sèche.
- ❖ Sensation d'étouffement.
- ❖ Nausées ou troubles digestifs.
- ❖ Engourdissements ou picotements dans les doigts.
- ❖ Douleurs thoraciques.
- ❖ Rythme cardiaque rapide (O'Reilly.,2011).

I.2.2.3. Symptômes physiologiques

- ❖ augmentation du rythme cardiaque .
- ❖ essoufflement.
- ❖ respiration rapide .
- ❖ douleur ou oppression thoracique .
- ❖ sensation d'étouffement .
- ❖ vertiges.
- ❖ étourdissements .
- ❖ transpiration.
- ❖ bouffées de chaleur (Chand et Marwaha .,2023).

I.2.3. Causes de l'anxiété

L'anxiété est devenue un phénomène répandu dans de nombreuses sociétés, touchant tous les groupes sociaux sans distinction, ce qui témoigne de la diversité de ses causes et de la multiplicité des facteurs qui y contribuent. Les psychologues, notamment les tenants de la psychanalyse, estiment que l'origine de l'anxiété réside dans les expériences de la petite enfance, que l'on peut résumer ainsi:



I.2.3.1. Traumatisme de naissance

Il s'agit de la première expérience anxieuse vécue par une personne, confrontée à un changement brutal d'environnement à sa naissance et à une lutte pour la survie. C'est là que se sèment les premières graines de la peur.

I.2.3.2. Anxiété de séparation (sevrage)

Elle naît de la peur de l'enfant d'être séparé de sa mère ou des personnes qu'il perçoit comme sa source de sécurité, engendrant des sentiments de menace et d'insécurité.

I.2.3.3. Anxiété de castration

Liée à la petite enfance et aux expériences sexuelles, elle se caractérise par la crainte d'une punition parentale pour ses sentiments ou ses pensées, générant un sentiment de culpabilité inconscient.

I.2.3.4. Socialisation

Ici, l'anxiété découle de la peur du rejet social ou de l'incapacité à répondre aux attentes familiales et aux normes culturelles, ce qui est lié à ce que l'on appelle l'anxiété du surmoi. **(Zatar.,2010)**. Bouhamed souligne qu'il existe des causes biologiques et psychologiques à l'anxiété :

Facteurs biologiques

Des études familiales suggèrent une prédisposition génétique aux troubles anxieux. Il pourrait s'agir d'une prédisposition à la maladie, plutôt que du trouble lui-même, qui serait héréditaire. Par exemple, le trouble obsessionnel-compulsif (TOC) est fréquent chez les apparentés au premier degré des personnes atteintes **(Lenane et al.,1990)**.

Facteurs psychologiques

La prédisposition génétique n'entraîne pas nécessairement le développement de ce trouble. Le stress et les expériences vécues durant la petite enfance jouent un rôle important. Les apprentissages précoces, notamment ceux liés à la peur, peuvent contribuer au développement de pensées et de comportements délirants, augmentant ainsi le risque de développer des troubles anxieux. **.(Mclaughlin et al.,2012)**.

I.2.4. Physiopathologie

Il convient de faire une distinction claire entre les troubles anxieux associés à des affections médicales générales et les troubles anxieux sains ou l'anxiété pathologique, car

chaque type a des causes, une nature et des caractéristiques différentes. **(Joshua et al.,2017)**. Les systèmes de neurotransmetteurs, notamment les systèmes noradrénergique et sérotoninergique, jouent un rôle dans la réponse de l'organisme au stress. Ces deux systèmes sont des voies fréquemment impliquées dans l'anxiété.

On considère généralement qu'une diminution de l'activité sérotoninergique et une augmentation de l'activité noradrénergique sont responsables de l'anxiété. C'est pourquoi les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) et les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSN) sont considérés comme des traitements de première intention contre l'anxiété **(Chand et Marwaha.,2023)**. Selon les théories biologiques, l'anxiété est attribuée à une hyperactivité du système nerveux autonome, entraînant une augmentation de la sécrétion de catécholamines, notamment de noradrénaline.

Ceci coïncide avec une diminution du taux d'acide gamma-aminobutyrique (GABA), contribuant à une activité accrue du système nerveux central. Une augmentation de l'activité dopaminergique et une diminution du taux de sérotonine sont également associées à une anxiété accrue. Ces modifications expliquent pourquoi certaines personnes souffrent d'anxiété atteignant des niveaux pathologiques, et la persistance de ce processus est souvent liée à une prédisposition génétique et au vécu de l'individu. **(Nuss.,2015)**.

Ces dernières années, l'intérêt pour l'étude du rôle de la régulation des corticostéroïdes et de son lien avec l'apparition des symptômes de peur et d'anxiété s'est accru. Ces hormones peuvent modifier l'activité de certaines voies neuronales cérébrales, en les activant ou en les inhibant, ce qui influence la réponse d'un individu au stress psychologique, ainsi que la manière dont le cerveau traite les stimuli liés à la peur. La cholécystokinine (CCK) est également un neurotransmetteur qui joue un rôle important dans la régulation des émotions et des états émotionnels. **(Adwas et al.,2019)**.

I.2.5.Traitement de l'anxiété

Le traitement de l'anxiété varie en fonction de chaque individu et de la gravité des symptômes, et comprend différentes méthodes de traitement. Les troubles anxieux peuvent être traités soit par médicaments. **(Strôhie et al.,2018)** soit par des herbes médicinales :



I.2.5.1. Médicaments

- **Antihistaminiques (hydroxyzine : Atarax ®)**

Ce médicament est utilisé pour traiter l'anxiété légère et soulager les symptômes d'allergie (antagoniste des récepteurs H1). Il est presque entièrement métabolisé par le foie en cétazine. **(Llorca et al .,2002).**

- **Azapirones**

Les azapirones agissent comme anxiolytiques en modulant les récepteurs 5-HT1A de la sérotonine. La buspirone est le médicament le plus couramment utilisé de cette classe en psychiatrie ; elle est employée pour le traitement de courte durée du trouble d'anxiété généralisée. **(Fagan et Balduim.,2023).**

- **Benzodiazépines**

Les benzodiazépines réduisent l'activité excessive de l'amygdale en renforçant l'inhibition de phase de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) par une modulation synergique positive des récepteurs GABA postsynaptiques. L'effet anxiolytique des benzodiazépines s'exercerait principalement au niveau des récepteurs GABA de l'amygdale, où elles atténuent les signaux liés à la peur, réduisant ainsi l'anxiété et les symptômes de la peur. **(stahl.,2021).**

I.2.5.2. Herbes médicinales

- **Melissa officinalis**

Les feuilles de mélisse possèdent une longue histoire d'utilisation traditionnelle comme sédatif naturel, contribuant à réduire l'anxiété et à améliorer la mémoire. Elles sont également utilisées dans les troubles du sommeil d'origine nerveuse et aident à soulager les troubles fonctionnels du système digestif. Cette plante est employée en pratique médicale comme un léger amélioration de l'humeur et est souvent recommandée aux patients souffrant de stress et d'anxiété **(Abascal et yarnell.,2004).**

- **Matricaria chamomilla L**

La camomille est considérée comme un excellent sédatif pour les troubles physiques et psychologiques associés à la dépression. De plus, l'infusion de camomille préparée à partir de ses fleurs peut contribuer à réduire les symptômes de la dépression et à améliorer la qualité du sommeil chez les patients **(Y et al 2023).**

Chapitre II: Withanai somnifera (L.)

II.1.Famille des Solanacées (Solanaceae)

Les Solanacées constituent un groupe taxonomique majeur de l'ordre des Solanales, regroupant environ 90 genres et plus de 2700 espèces d'angiospermes dicotylédones, réparties dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées (**Bruneton, 2016**).

Morphologiquement, ce sont généralement des plantes herbacées ou arbustives, à feuilles alternes et simples, et à fleurs actinomorphes hermaphrodites de plan pentamère. Sur le plan phytochimique, cette famille est reconnue pour sa richesse en métabolites secondaires bioactifs, notamment les alcaloïdes tropaniques, les glycoalcaloïdes stéroïdiens et, dans le genre *Withania*, les lactones stéroïdiennes appelées withanolides (**Mikulska et al., 2023**). Cette famille revêt une importance économique considérable, regroupant des cultures alimentaires essentielles (*Solanum tuberosum*, *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annum*) ainsi que des plantes médicinales (*Atropa belladonna*, *Datura stramonium*, *Withanai somnifera*), certaines espèces présentant toutefois une toxicité liée à leur teneur en alcaloïdes (**Mikulska et al., 2023**).

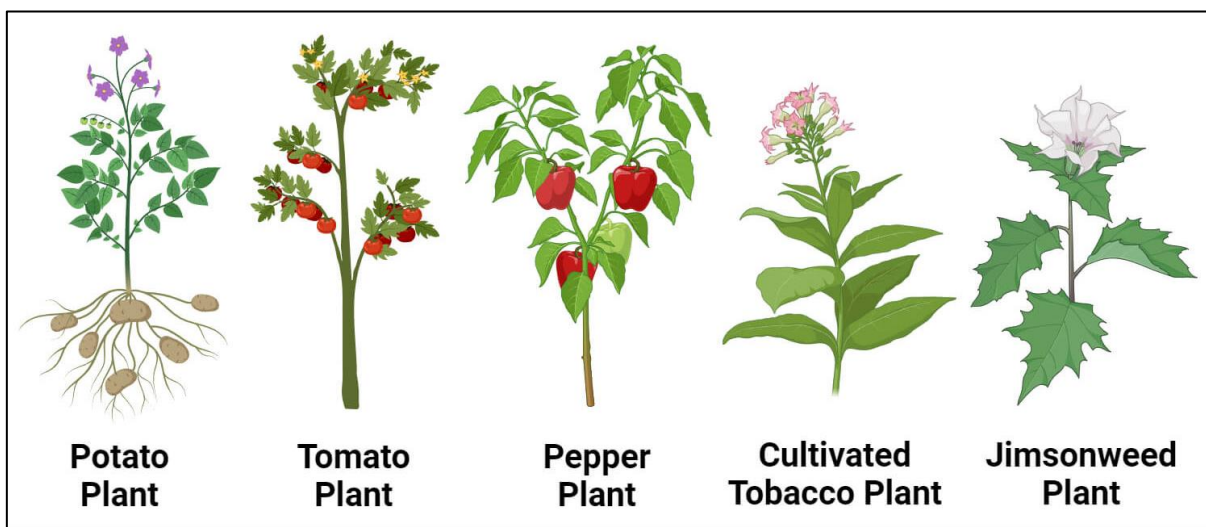


Figure 01: Quelques plantes communes de la famille des Solanacées (Dhruv Pandya et al, 2022)

II.2. Genre *Withania*

Le genre *Withania* constitue un taxon d'intérêt majeur au sein des Solanacées, en raison de sa singularité phytochimique et de son importance en pharmacologie végétale. Il regroupe un nombre limité d'espèces (environ 10 à 15 selon les classifications), essentiellement distribuées dans les régions arides et semi-arides. Ce genre se distingue par une organisation morpho-anatomique adaptée aux contraintes environnementales, notamment une pubescence



dense limitant la perte hydrique, ainsi qu'un système racinaire développé favorisant l'absorption de l'eau en profondeur. **(Kashyap et al, 2022)**

Les espèces du genre *Withania* présentent une stratégie de reproduction efficace dans des milieux contraignants. Les fleurs, bien que discrètes, assurent une fécondation entomophile, tandis que les fruits, sous forme de baies enveloppées par un calice accrescent, facilitent la protection des graines contre les conditions climatiques extrêmes. Cette particularité morphologique constitue un caractère diagnostique du genre et témoigne d'une adaptation évolutive spécifique aux environnements xériques. **(Dunn, 2022)**

Alors que, l'intérêt scientifique du genre *Withania* repose en grande partie sur son métabolisme secondaire spécialisé. Les espèces de ce genre synthétisent des lactones stéroïdiennes uniques, appelées **withanolides**, dont la diversité structurale est associée à des activités biologiques variées. Ces composés sont principalement localisés dans les racines et les feuilles, et leur biosynthèse est influencée par des facteurs écologiques tels que la température, la disponibilité hydrique et la nature du sol. **(Dunn, 2022)**

II.2.1.Répartition géographique du genre

II.2.1.1.Dans le monde

La distribution du genre *Withania* s'inscrit dans une logique biogéographique caractéristique des flores xérophiles. Les espèces de ce genre occupent principalement les zones intertropicales et méditerranéennes, où les conditions climatiques sont marquées par une forte insolation, des précipitations faibles et des amplitudes thermiques importantes. Cette répartition traduit une spécialisation écologique vers des milieux ouverts, souvent perturbés, tels que les friches, les terrains sableux ou les zones steppiques.

À l'échelle mondiale, le centre de diversité du genre se situe en **Asie du Sud**, notamment en Inde et au Pakistan, où plusieurs espèces sont présentes à l'état spontané. Toutefois, le genre s'étend également vers l'Afrique du Nord et subsaharienne, ainsi que vers certaines régions du Moyen-Orient et du bassin méditerranéen. Cette large distribution témoigne de la plasticité écologique du genre, capable de coloniser des habitats variés tout en conservant des traits morphologiques relativement stables. Les facteurs écologiques influençant la répartition du genre incluent la nature du substrat, la disponibilité en eau et les interactions biotiques. Les espèces de *Withania* montrent une préférence pour des sols bien drainés et tolèrent des conditions de salinité modérée, ce qui favorise leur implantation dans des environnements marginaux où la concurrence végétale est limitée. **(Mandlik et Namdeo, 2021)**

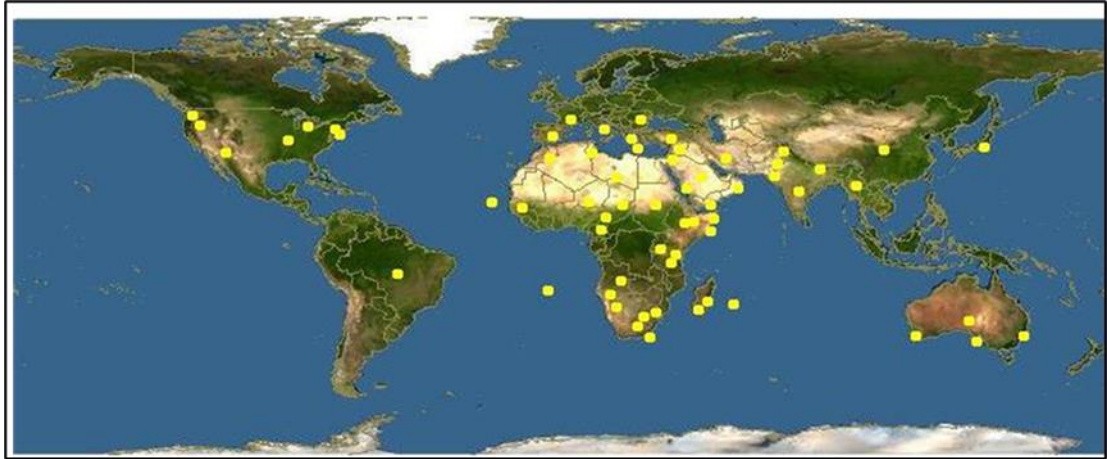


Figure 02: Répartition de *W. somnifera* (Les points jaunes indiquent la répartition des plante (Aslam et al, 2017)

II.2.1.2. En Algérie

En Algérie, la présence du genre *Withania* s'inscrit dans le cadre des formations végétales steppiques et sahariennes, caractérisées par une végétation clairsemée et une forte adaptation aux contraintes hydriques. L'espèce la plus représentative est *Withania frutescens*, qui constitue un élément typique de la flore nord-africaine. Sa distribution géographique couvre principalement les régions des Hauts Plateaux, les zones présahariennes et certaines parties du Sahara septentrional. Elle est fréquemment observée dans des habitats dégradés, notamment le long des pistes, dans les terrains vagues et sur les sols pierreux, où elle joue un rôle dans la stabilisation des substrats et la limitation de l'érosion.

La présence de ce genre en Algérie présente un intérêt particulier dans le contexte de la valorisation des ressources phytogénétiques locales. En effet, les conditions climatiques similaires à celles des régions d'origine de certaines espèces, notamment *Withania somnifera* L, offrent un potentiel pour leur acclimatation et leur culture. Cette perspective ouvre des voies de recherche en agronomie et en pharmacognosie, notamment en ce qui concerne l'adaptation des espèces aux conditions locales et l'optimisation de la production de métabolites d'intérêt. (Kaul et Wadhwa, 2017)

II.3. *Withanai somnifera* (Ashwagandha)

Espèce emblématique du genre *Withania*, *Withanai somnifera* (L.) Dunal est une plante médicinale largement reconnue pour ses propriétés adaptogènes et son usage traditionnel en médecine ayurvédique. Elle représente l’espèce la plus étudiée du genre en raison de son profil phytochimique riche et de ses multiples applications thérapeutiques. Sa connaissance systématique, taxonomique et morphologique constitue une base essentielle pour son identification, sa valorisation et son utilisation en phytothérapie. (Wiciński *et al*, 2025)

II.3.1.Classification

Tableau 01: La classification taxonomique de *Withanai somnifera* (Wiciński *et al*, 2025)

Niveau taxonomique	Classification
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Division	Magnoliophyta (Angiospermes)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Ordre	Solanales
Famille	Solanacées
Sous-famille	Solanoideae
Genre	<i>Withania</i>
Espèce	<i>Withanai somnifera</i> (L.) Dunal

II.3.2. Description botanique de *Withanai somnifera* (L.) Dunal

L’étude botanique de *Withanai somnifera* L met en évidence une organisation structurale complexe, adaptée aux conditions écologiques contraignantes dans lesquelles l’espèce évolue. Il s’agit d’un sous-arbrisseau pérenne dont la morphologie traduit une stratégie d’adaptation aux milieux arides et semi-arides. (Zahiruddin *et al*, 2020)

▪ Appareil végétatif

– **La tige:** est généralement dressée, fortement ramifiée dès la base, et recouverte d’une pubescence fine constituée de trichomes non glandulaires. Cette pubescence joue un rôle protecteur en réduisant la transpiration et en limitant l’impact du rayonnement solaire. L’épiderme présente une cuticule relativement épaisse, contribuant à la résistance à la dessiccation.



– **Les feuilles:** sont disposées de manière alterne, portées par un pétiole court. Le limbe est entier, de forme ovale à elliptique, avec une nervation pennée bien marquée. Sur le plan anatomique, le mésophylle est différencié en parenchyme palissadique et lacuneux, assurant une photosynthèse efficace même sous forte luminosité. La présence de trichomes à la surface foliaire constitue également une adaptation à la sécheresse. **(Zahiruddin et al, 2020)**

▪ **Appareil reproducteur**

– **Les fleurs de *Withanai somnifera*:** sont généralement axillaires, de petite taille et peu voyantes, ce qui reflète une stratégie de reproduction peu dépendante des attracteurs visuels. Le calice, formé de cinq sépales soudés, persiste après la fécondation et s'accroît pour entourer le fruit, formant une structure protectrice caractéristique.

– **La corolla:** est tubulaire-campanulée, à cinq lobes, et de coloration verdâtre à jaunâtre. L'androcée est constitué de cinq étamines insérées sur la corolle, avec des anthères biloculaires. Le gynécée est formé de deux carpelles soudés, donnant un ovaire supère à placentation axile. Le style est simple, terminé par un stigmate discret. **(Zahiruddin et al, 2020)**

▪ **Fruit et graines**

– **Le fruit:** est une baie globuleuse, charnue, devenant rouge orangé à maturité. Il est entièrement entouré par le calice accrescent, qui agit comme une enveloppe protectrice contre les agressions extérieures. Cette structure joue également un rôle dans la dispersion des graines en limitant leur exposition directe.

– **Les grains:** sont nombreuses, de petite taille, aplaties et de forme réniforme. Leur tégument est relativement dur, ce qui favorise leur résistance aux conditions environnementales défavorables et permet une germination différée. **(Zahiruddin et al, 2020)**

▪ **Système racinaire**

Le système racinaire est constitué d'une racine principale pivotante, accompagnée de racines secondaires épaisses et tubérisées. Ces racines servent de réserve en nutriments et en eau, permettant à la plante de survivre pendant les périodes de stress hydrique. Elles représentent également la partie la plus riche en composés bioactifs, notamment les withanolides, ce qui explique leur utilisation prédominante en phytothérapie. **(Zahiruddin et al, 2020)**



Figure 03: Caractéristiques botaniques de l'ashwagandha (*Withania somnifera* L.) (Dhruv Pandya et al, 2022)

II.3.3. Composition chimique de *Withania somnifera* (L.) Dunal

La composition chimique de *Withania somnifera* L. se distingue par une diversité structurale remarquable de ses métabolites secondaires, prédominant au niveau des racines, principale source de principes actifs. Cette richesse résulte de plusieurs voies biosynthétiques (voie du mévalonate et des phénylpropanoïdes), expliquant ses activités adaptogènes, neuroprotectrices et anti-inflammatoires (Mikulska et al., 2023).

✚ **Les withanolides (composés majeurs)** : ils représentent la classe chimique dominante et constituent les marqueurs phytochimiques spécifiques du genre. Ce sont des lactones stéroïdiennes C28 dérivées du squelette ergostane. Parmi eux, la withaférine A est étudiée pour ses propriétés cytotoxiques et anti-inflammatoires, tandis que la withanolide A et la withanone sont associées à des effets neuroprotecteurs et anti-stress. Au niveau moléculaire, ils modulent plusieurs cibles biologiques (facteurs de transcription NF- κ B, protéines de choc thermique HSP, enzymes inflammatoires) (Mikulska et al., 2023).

✚ **Les alcaloïdes** : bien que quantitativement secondaires, ils présentent un intérêt pharmacologique notable. Des composés tels que la somniférine, l'anaférine et la tropine agissent sur le système cholinergique, contribuant aux effets sédatifs, anxiolytiques et myorelaxants. Leur faible concentration limite les risques de toxicité (Mikulska et al., 2023).

✚ **Les saponines et composés glycosidiques** : principalement des saponines stéroïdiennes formant les withanosides. Ils jouent un rôle clé dans les effets adaptogènes, en régulant l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) et les niveaux de cortisol, et présentent des propriétés immunomodulatrices en synergie avec les withanolides (Mikulska et al., 2023).

✚ **Les composés phénoliques et flavonoïdes** : ils constituent une fraction importante du système antioxydant de la plante, neutralisant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et inhibant la peroxydation lipidique. Les flavonoïdes modulent également les enzymes inflammatoires (cyclooxygénases, lipoxygénases), renforçant l'effet anti-inflammatoire global (Mikulska *et al.*, 2023).

✚ **Autres constituants** : la plante renferme aussi des constituants mineurs (acides aminés, acides organiques, stérols végétaux, lipides et glucides) qui participent au métabolisme physiologique et influencent indirectement la stabilité, la solubilité et la biodisponibilité des principes actifs, notamment les withanolides (Mikulska *et al.*, 2023).

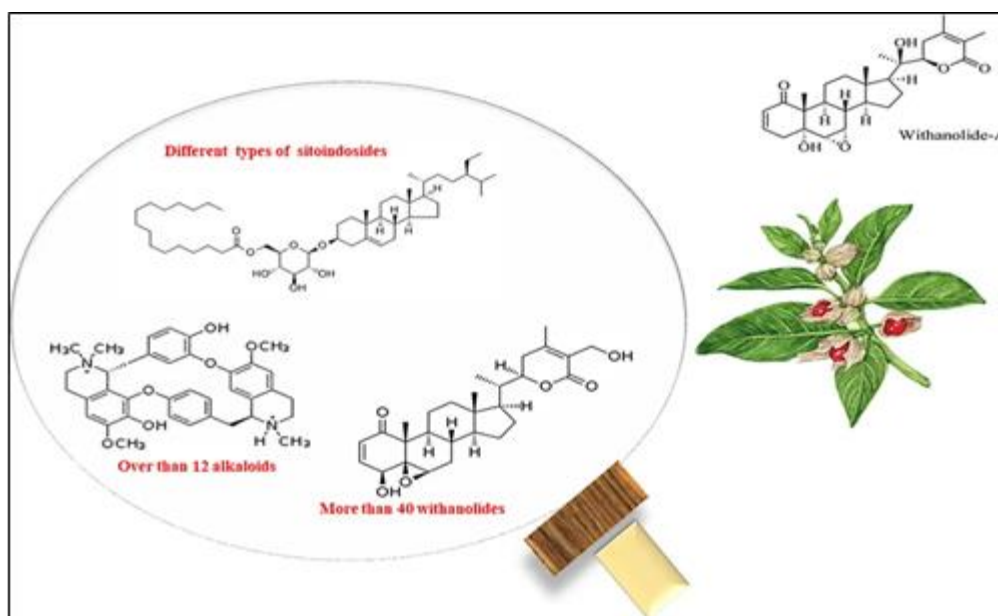


Figure 04: Composition chimique de *Withania somnifera* L. (Dhruv Pandya *et al.*, 2022)

II.3.4. Activités biologiques de *Withania somnifera* (L.) Dunal

Les activités biologiques de *Withania somnifera* L. reposent sur une interaction synergique entre plusieurs classes de métabolites secondaires agissant sur différentes cibles moléculaires. Cette action pléiotrope module le stress oxydatif, l'expression génique, la signalisation intracellulaire et l'homéostasie neuroendocrinienne, expliquant son efficacité dans les pathologies liées au stress chronique, aux désordres inflammatoires et métaboliques (Wiciński *et al.*, 2025).

II.3.4.1. Activité antibactérienne et antifongique

Les withanolides et composés phénoliques exercent une action bactériostatique et bactéricide en perturbant l'intégrité de la membrane cytoplasmique et le métabolisme



énergétique des micro-organismes. L'activité antifongique repose sur l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol et de la formation de biofilms, limitant la prolifération de champignons tels que *Candida albicans* (Wiciński *et al.*, 2025).

II.3.4.2. Activité anti-stress (anxiolytique)

L'effet anxiolytique repose sur la régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) : les withanolides diminuent l'hyperactivité de cet axe et normalisent les taux de cortisol. Ils modulent également les récepteurs GABAergiques (effet sédatif comparable aux benzodiazépines sans effets secondaires majeurs) ainsi que les systèmes sérotoninergique et dopaminergique, améliorant l'humeur et les fonctions cognitives (Wiciński *et al.*, 2025).

II.3.4.3. Activité antioxydante

Les composés phénoliques et flavonoïdes neutralisent les radicaux libres en agissant comme donneurs d'électrons, tandis que les withanolides stimulent l'expression d'enzymes antioxydantes (SOD, catalase, glutathion peroxydase) via la voie Nrf2. Cette double action maintient l'homéostasie redox et protège les membranes lipidiques et l'ADN, prévenant le vieillissement cellulaire (Mandlik et Namdeo., 2021).

II.3.4.4. Activité anti-inflammatoire

Les withanolides, notamment la withaférine A, inhibent l'activation du facteur de transcription NF- κ B, réduisant la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, TNF- α) et l'activité des enzymes COX-2 et LOX. Cette action diminue l'infiltration des cellules immunitaires dans les tissus inflammés et protège contre les dommages chroniques (Mandlik et Namdeo., 2021).

II.3.4.5. Activité antitoxique

Withanai somnifera L. renforce les systèmes de détoxification endogènes en stimulant les enzymes hépatiques des phases I et II du métabolisme des xénobiotiques et en augmentant les niveaux de glutathion réduit (GSH). Des effets protecteurs ont été observés aux niveaux hépatique, neuronal et rénal, suggérant un rôle contre les toxicités médicamenteuses et environnementales (Mandlik et Namdeo., 2021).

II.3.4.6. Activité antidiabétique

La plante améliore la sensibilité à l'insuline via la voie PI3K/Akt et inhibe les enzymes digestives α -amylase et α -glucosidase, réduisant l'absorption intestinale du glucose. Elle



favorise aussi la régénération des cellules β pancréatiques, son action étant renforcée par ses effets antioxydant et anti-inflammatoire (Mandlik et Namdeo., 2021).

II.3.5. Propriétés thérapeutiques de *Withanai somnifera* (L.) Dunal

Les propriétés thérapeutiques de *Withanai somnifera* L. résultent de l'intégration de ses multiples activités biologiques, lui conférant un large spectre d'applications. Considérée comme une plante adaptogène majeure, elle améliore la capacité d'adaptation de l'organisme aux stress physiologiques, psychologiques et environnementaux (Kaul et Wadhwa., 2017).

1) Effet adaptogène et neuroprotecteur : en modulant l'axe HHS, la plante stabilise les réponses au stress et réduit la surcharge cortisolique ; les withanolides limitent les dommages neuronaux et favorisent la plasticité synaptique, améliorant la mémoire et la concentration (Kaul et Wadhwa., 2017).

2) Effets anxiolytiques et sédatifs : par interaction avec le système GABAergique, la plante induit un effet calmant sans dépendance, réduit l'irritabilité et la fatigue mentale, et améliore la qualité du sommeil (Kaul et Wadhwa ., 2017).

3) Effets cardioprotecteurs : grâce à ses effets antioxydants et anti-inflammatoires, elle réduit le stress oxydatif cardiaque, améliore la fonction endothéliale et régule la pression artérielle et le profil lipidique (Kaul et Wadhwa, 2017).

4) Effets immunomodulateurs : elle stimule les défenses naturelles en augmentant l'activité des macrophages, lymphocytes et cellules NK, tout en modulant les réponses immunitaires excessives dans les conditions inflammatoires ou auto-immunes (Kaul et Wadhwa., 2017).

5) Effets métaboliques et endocriniens : la plante améliore la sensibilité à l'insuline, régule la glycémie et la fonction thyroïdienne, et réduit la fatigue chronique associée au stress prolongé (Kaul et Wadhwa., 2017).

6) Effets anticancéreux potentiels : certains withanolides, notamment la withaférine A, induisent l'apoptose des cellules tumorales et inhibent la prolifération cellulaire et l'angiogenèse, mais ces résultats restent expérimentaux et nécessitent des investigations cliniques (Kaul et Wadhwa., 2017).

7) Applications en phytothérapie : utilisée sous forme de poudres de racines, d'extraits standardisés ou de gélules, elle est particulièrement indiquée dans les états de stress et d'anxiété,



les troubles du sommeil, la fatigue chronique, les déficits cognitifs et les déséquilibres métaboliques (**Kaul et Wadhwa ., 2017**).

Chapitre III

Le kéfir (Complexe probiotique)



III.1. Historique et définition du kéfir

1. Le kéfir constitue un système fermentaire complexe dont l'intérêt s'inscrit dans les domaines de la microbiologie appliquée, de la nutrition fonctionnelle et de la biotechnologie. Il représente un modèle naturel de consortium microbien stable, capable de maintenir une activité métabolique dynamique au cours de cycles successifs de fermentation. Ce produit se distingue des autres aliments fermentés par la coexistence organisée de micro-organismes dans une matrice structurée, favorisant la production de composés bioactifs à haute valeur fonctionnelle. Sur le plan historique, le kéfir trouve son origine dans les régions montagneuses du Caucase, où il était traditionnellement préparé par fermentation spontanée du lait à l'aide de grains transmis de génération en génération, avant que les premières études scientifiques du XIX^e siècle n'en identifient les micro-organismes et n'en révèlent les bienfaits sur la santé (**Beghedadi et Bouzrara., 2022**).

III.1.1. Origine et découverte du kéfir

L'origine du kéfir est associée aux populations pastorales du Caucase, où il était obtenu par fermentation spontanée du lait à l'aide de grains contenant une flore microbienne complexe, maintenue par transmission intergénérationnelle. Il constitue un exemple remarquable de domestication microbienne. Les premières études scientifiques du XIX^e siècle ont identifié les micro-organismes impliqués et mis en évidence le lien entre sa consommation et certains bénéfices sanitaires, notamment une meilleure tolérance digestive et une réduction des infections intestinales (**Chambeaudie., 2025**).

III.1.2. Définition

Le kéfir est défini comme un écosystème microbien symbiotique immobilisé dans une matrice polysaccharidique, capable de transformer un substrat organique en un produit fermenté riche en métabolites bioactifs. Il est une boisson fermentée probiotique, obtenue à partir de grains de kéfir, bénéfique pour la digestion et le système immunitaire.

Bien que, le kéfir est une boisson issue de la fermentation du lait ou de jus de fruits sucrés grâce aux grains de kéfir, un mélange vivant de bactéries lactiques et de levures. La boisson obtenue est légèrement gazeuse et contient un faible taux d'alcool, généralement autour de 0,5 %. Il existe deux types principaux : le kéfir de lait, crémeux et proche du yaourt à boire, et le kéfir d'eau, plus léger et pétillant, adapté aux personnes intolérantes au lactose. (**Akli et Ould Saadi., 2023**)

Les grains de kéfir représentent une structure tridimensionnelle dans laquelle coexistent plusieurs populations microbiennes, organisées en biofilm. Cette organisation permet des échanges métaboliques complexes, notamment le transfert de nutriments, la production de facteurs de croissance et la régulation du pH. La fermentation kéfirique implique plusieurs voies métaboliques simultanées :

- fermentation lactique (production d'acide lactique)
- fermentation alcoolique (production d'éthanol)
- fermentation acétique (production d'acide acétique)

Cette diversité métabolique confère au produit final des propriétés physico-chimiques spécifiques, telles qu'un pH acide, une légère effervescence et une composition riche en molécules bioactives. (Akli et Ould Saadi., 2023)



Figure 05: Le kéfir (My Soby (s.d.)

III.1.3. Concept de complexe probiotique

Le kéfir illustre parfaitement le concept de complexe probiotique dynamique, caractérisé par la présence d'un consortium de micro-organismes vivants interagissant de manière synergique. Contrairement aux probiotiques conventionnels, constitués de souches isolées, le kéfir repose sur une organisation écologique fonctionnelle, où chaque espèce joue un rôle spécifique dans l'équilibre global du système. Cette synergie microbienne se traduit par :

- 1) une **complémentarité métabolique** (production croisée de substrats)
- 2) une **stabilité écologique** face aux variations environnementales
- 3) une **résistance accrue à la colonisation par des agents pathogènes**

De plus, le kéfir agit comme un système synbiotique naturel, combinant l'apport de micro-organismes probiotiques et de composés prébiotiques issus de la fermentation, tels que les polysaccharides et les oligosaccharides.

Au niveau intestinal, ce complexe probiotique est capable d'interagir avec le microbiote résident, modulant sa composition et son activité fonctionnelle. Cette interaction contribue à l'amélioration de la santé digestive, immunitaire et même neuropsychique, notamment via l'axe intestin-cerveau. (Sekkal-taleb *et al.*, 2021)

III.2. Composition microbiologique du kéfir

La composition microbiologique du kéfir se caractérise par une diversité taxonomique et fonctionnelle élevée, formant un écosystème symbiotique complexe. Ce consortium microbien est constitué principalement de bactéries lactiques, de levures et, dans certains cas, de bactéries acétiques, organisés au sein d'une matrice polysaccharidique tridimensionnelle. Cette diversité microbienne confère au kéfir une grande stabilité écologique ainsi qu'une capacité d'adaptation aux variations du milieu. Les interactions entre les différentes populations reposent sur des mécanismes de coopération métabolique (cross-feeding), où les produits de fermentation d'un groupe microbien servent de substrats à d'autres, assurant ainsi une fermentation continue et équilibrée. (Cesare-Herriau et Abriouel Hayani, 2016)

III.2.1. Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (BAL) constituent la fraction dominante du microbiote du kéfir et jouent un rôle central dans la fermentation. Elles appartiennent principalement aux genres **Lactobacillus**, **Lactococcus**, **Leuconostoc** et **Streptococcus**, avec une prédominance de bactéries hétérofermentaires.

Ces micro-organismes métabolisent les glucides présents dans le substrat (lactose ou saccharose) via des voies glycolytiques telles que la voie d'Embden-Meyerhof ou la voie des pentoses phosphates, conduisant à la production d'acide lactique, de dioxyde de carbone et d'autres métabolites secondaires. Cette production d'acide entraîne une diminution du pH, créant un environnement défavorable au développement de micro-organismes pathogènes.

Au-delà de leur rôle fermentaire, les BAL participent à la synthèse de composés antimicrobiens tels que les **bactériocines**, ainsi qu'à la production d'exopolysaccharides impliqués dans la structure des grains. Elles jouent également un rôle clé dans la modulation du

microbiote intestinal, en favorisant l'implantation de bactéries bénéfiques et en renforçant la fonction barrière de l'intestin. (Cesare-Herriau et Abriouel Hayani, 2016)

III.2.2. Levures

Les levures représentent la deuxième composante essentielle du kéfir et contribuent de manière significative à son activité métabolique. Les espèces les plus fréquemment rencontrées appartiennent aux genres **Saccharomyces**, **Kluyveromyces**, **Candida** et **Pichia**. Ces micro-organismes réalisent principalement une fermentation alcoolique, en éthanol et en dioxyde de carbone. Cette activité est responsable de la légère effervescence caractéristique du kéfir. Par ailleurs, les levures produisent des enzymes telles que la **β -galactosidase**, facilitant la dégradation du lactose, ce qui améliore la digestibilité du produit.

Les levures jouent également un rôle dans la synthèse de composés aromatiques (esters, alcools supérieurs) qui contribuent aux propriétés organoleptiques du kéfir. De plus, elles participent à la production de vitamines du groupe B et de facteurs de croissance favorisant le développement des bactéries lactiques, illustrant ainsi une relation symbiotique étroite entre les différentes populations microbiennes. (Cesare-Herriau et Abriouel Hayani, 2016)

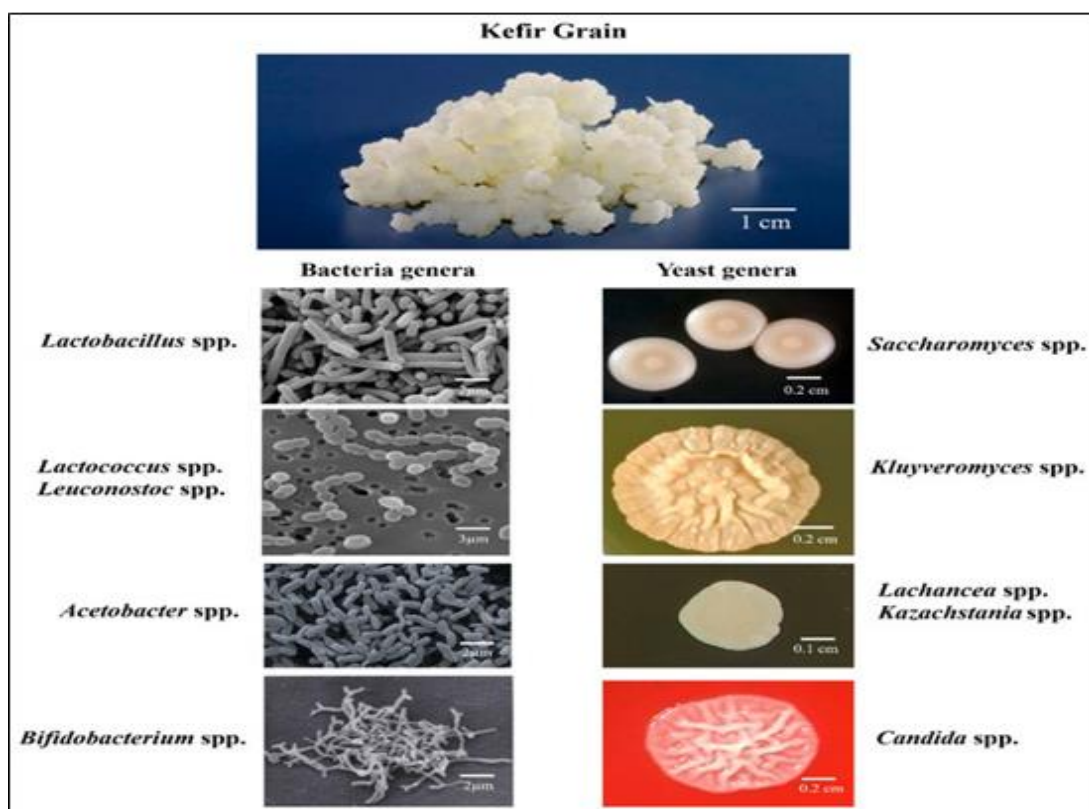


Figure 06: Genres de bactéries/levures présents dans les grains de kéfir. (Cesare-Herriau & Abriouel Hayani, 2016)



III.2.3. Structure des grains de kéfir et kéfirane

Les grains de kéfir constituent une structure biologique unique, correspondant à une matrice polysaccharidique tridimensionnelle dans laquelle sont immobilisées les populations microbiennes. Cette matrice est principalement composée de kéfirane, un exopolysaccharide hydrosoluble synthétisé par certaines bactéries lactiques, notamment *Lactobacillus kefiranofaciens*. Les grains présentent une organisation complexe en microcolonies, où les bactéries et les levures sont distribuées de manière hétérogène mais fonctionnellement intégrée. Cette organisation favorise les échanges métaboliques et protège les micro-organismes contre les stress environnementaux, tels que les variations de pH ou de température. **(da Anunciação et al, 2024)**

Le kéfirane joue un rôle fondamental non seulement dans la cohésion structurale des grains, mais également dans les propriétés biologiques du kéfir. Il possède des activités **immunomodulatrices, antioxydantes et antimicrobiennes**, contribuant ainsi aux effets bénéfiques du produit final. De plus, la structure des grains agit comme un système de **biofilm naturel**, permettant une croissance microbienne stable et une reproduction continue des grains lors des cycles de fermentation. Cette caractéristique distingue le kéfir des autres systèmes fermentaires et explique sa durabilité et sa reproductibilité. **(da Anunciação et al., 2024)**

III.3.Sources et modes de préparation du kéfir

Les sources et modes de préparation du kéfir déterminent sa composition microbiologique finale ainsi que ses propriétés physico-chimiques et biologiques. Selon le substrat et les conditions de fermentation, on distingue traditionnellement deux types : le kéfir de lait et le kéfir d'eau, chacun reposant sur des substrats et des dynamiques fermentaires spécifiques **(Beghedadi et Bouzrara., 2022)**.

III.3.1. Kéfir de lait

Le kéfir de lait est obtenu par fermentation du lait à l'aide de grains de kéfir, le lactose étant métabolisé par les bactéries lactiques en acide lactique ($\text{pH} \approx 4,2-4,6$), ce qui provoque la coagulation partielle de la caséine et une texture épaisse. Les levures réalisent parallèlement une fermentation alcoolique (éthanol et CO_2). Il est enrichi en peptides bioactifs, acides aminés et vitamines B, et présente une digestibilité améliorée chez les intolérants au lactose grâce à l'activité β -galactosidase **(Beghedadi et Bouzrara., 2022)**.



III.3.2. Kéfir d'eau

Le kéfir d'eau, ou « kéfir de fruits », est obtenu par fermentation d'une solution sucrée (saccharose) sans lactose, reposant sur une fermentation mixte de levures et de bactéries lactiques. Les levures hydrolysent le saccharose en glucose et fructose, produisant éthanol, CO₂ et composés aromatiques. Il se caractérise par une boisson légèrement pétillante et acidulée, riche en acides organiques, constituant une alternative pour les personnes ne consommant pas de produits laitiers (**Beghedadi et Bouzrara., 2022**).

III.3.3. Procédé de fermentation du kéfir

Le procédé de fermentation du kéfir est un système dynamique complexe où l'évolution des populations microbiennes est liée aux transformations biochimiques du milieu, se déroulant en trois phases :

1) Phase d'adaptation (latence) : les micro-organismes ajustent leur métabolisme au substrat par l'activation des systèmes enzymatiques (β -galactosidase, invertase) et la synthèse de protéines de transport. La consommation d'oxygène par les levures crée un environnement anaérobie favorable aux bactéries lactiques, amorçant l'acidification (**Chambeaudie., 2025**).

2) Phase exponentielle (croissance active) : prolifération rapide des micro-organismes avec fermentation lactique (acide lactique via la glycolyse), fermentation alcoolique (éthanol et CO₂) et production de métabolites secondaires. Les interactions microbiennes (cross-feeding) sont maximales, et l'acidification (pH < 5) inhibe les micro-organismes indésirables (**Chambeaudie., 2025**).

III.3.4. Conditions optimales de culture du kéfir

Les conditions de culture régulent l'activité microbiologique et la qualité fonctionnelle du produit.

La température optimale (20–25 °C) assure une activité enzymatique équilibrée entre bactéries lactiques et levures.

Le temps de fermentation (24–48 h) permet un équilibre optimal entre production de métabolites et viabilité microbienne. Le pH final (4–4,5) garantit la stabilité microbiologique en inhibant les pathogènes.

La nature et concentration du substrat ainsi que le rapport grains/substrat influencent fortement la cinétique fermentaire et la reproductibilité du produit (**Sekkal-Taleb et al., 2021**).



III.4. Effets du kéfir sur le système immunitaire

Le kéfir exerce des effets immunomodulateurs reposant sur l'interaction entre ses micro-organismes probiotiques et le système immunitaire de l'hôte, notamment au niveau du tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT). Il agit comme régulateur de l'homéostasie immunitaire via la reconnaissance des composants microbiens (MAMPs) par les récepteurs Toll-like (TLRs) et l'activation de voies de signalisation telles que NF- κ B (Akli et Ould Saadi., 2023).

III.4.1. Stimulation de l'immunité innée

Le kéfir active les cellules effectrices de première ligne (macrophages, neutrophiles, cellules NK) en augmentant la capacité phagocytaire et la production de médiateurs antimicrobiens (ROS, NO). Le kéfirane stimule l'expression de cytokines (IL-12, IFN- γ) favorisant la réponse antivirale, et renforce les jonctions serrées épithéliales ainsi que la production de défensines, consolidant les barrières naturelles (Akli et Ould Saadi., 2023).

III.4.2. Activation de l'immunité adaptative

Le kéfir module les réponses lymphocytaires en favorisant la maturation des cellules dendritiques et la différenciation des lymphocytes T (Th1, Th2, Treg). Il stimule la production d'immunoglobulines, en particulier les IgA sécrétoires qui protègent les muqueuses, et peut induire une tolérance immunitaire pertinente dans le contexte des allergies et maladies auto-immunes (Akli et Ould Saadi., 2023).

III.4.3. Effet anti-inflammatoire et régulation des cytokines

Le kéfir module l'équilibre entre cytokines pro- et anti-inflammatoires : ses métabolites (acides organiques, exopolysaccharides) inhibent les voies NF- κ B et MAPK, réduisant TNF- α , IL-6 et IL-1 β , tout en favorisant l'IL-10 anti-inflammatoire. Son action sur le microbiote intestinal contribue indirectement à maintenir l'intégrité de la barrière intestinale et à réduire l'inflammation systémique (Akli et Ould Saadi., 2023).

III.5. Relation entre le kéfir et l'anxiété

L'intérêt du kéfir dans l'anxiété s'inscrit dans le cadre des psychobiotiques, micro-organismes capables d'influencer le fonctionnement cérébral via le microbiote intestinal. Le kéfir est considéré comme un candidat pour moduler certains déterminants de l'anxiété (axe intestin-cerveau, réponse neuroendocrinienne, inflammation, signalisation neurochimique),



bien que les données les plus solides restent précliniques et les preuves cliniques humaines encore limitées (**Aburto et Cryan., 2024**).

III.5.1. Axe intestin–cerveau (Gut–Brain Axis)

L'axe intestin–cerveau est un système de communication bidirectionnelle reliant le tube digestif, le microbiote, le système immunitaire et le système nerveux central, empruntant les voies nerveuse (nerf vague), endocrine, immunitaire et métabolique. Le kéfir pourrait agir comme modulateur écologique du microbiote, renforçant la barrière intestinale et réduisant les signaux inflammatoires atteignant le cerveau, avec des effets comportementaux mesurables chez l'animal (**Aburto et Cryan., 2024**).

III.5.2. Régulation du cortisol

Le cortisol (ou corticostérone chez les rongeurs) est l'hormone clé de la réponse au stress, contrôlée par l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien. En améliorant l'équilibre du microbiote et en diminuant l'inflammation, le kéfir pourrait normaliser cette hyperactivité neuroendocrinienne. Des études murines montrent qu'il améliore le comportement anxieux et module les taux de corticostérone et de BDNF, sans toutefois pouvoir extrapoler directement ces résultats à l'humain (**Zhou et Foster., 2015**).

III.5.3. Production des neurotransmetteurs (GABA, sérotonine)

Le kéfir pourrait moduler le GABA (principal neurotransmetteur inhibiteur, dont le déficit est associé à l'anxiété), certaines souches issues des grains possédant une capacité de biosynthèse du GABA. Il influence également le métabolisme du tryptophane, précurseur de la sérotonine. Des souches comme *Lactobacillus kefirianofaciens* régulent l'axe HHS et le métabolisme du tryptophane dans les modèles de stress (**Zhou et Foster., 2015**).

III.5.4. Données expérimentales sur l'effet anxiolytique

Les données expérimentales indiquent un effet anxiolytique potentiel du kéfir, non encore démontré définitivement chez l'humain. Les modèles animaux rapportent une amélioration des comportements liés au stress avec modification du microbiote, du BDNF et de la corticostérone. Chez l'humain, un essai contrôlé randomisé récent conclut à un potentiel intéressant, mais limité par la petite taille de l'échantillon, le kéfir restant une piste prometteuse en cours de validation clinique (**Zhou et Foster, 2015**).



III.6. Applications thérapeutiques et perspectives

Le kéfir, complexe probiotique naturel, suscite un intérêt croissant grâce à sa capacité à moduler le microbiote intestinal, renforcer le système immunitaire et intervenir dans divers processus physiopathologiques. Sur le plan digestif, il restaure l'équilibre du microbiote et améliore la digestion du lactose (β -galactosidase). Sur le plan immunitaire, il agit comme immunomodulateur et limite la perméabilité intestinale. Sur le plan métabolique, il régule la glycémie, améliore le profil lipidique et réduit le stress oxydatif. Dans le contexte neuropsychique, il s'inscrit dans le champ des psychobiotiques et pourrait réduire l'anxiété et le stress, suggérant un effet synergique avec une plante adaptogène comme *Withanai somnifera* (da Anunciação *et al.*, 2024).

Cependant, certaines limites doivent être soulignées : la variabilité de la composition microbiologique du kéfir rend difficile la standardisation des effets, et la majorité des études restent précliniques, nécessitant des essais cliniques contrôlés. En perspective, le kéfir pourrait être valorisé dans le développement de compléments alimentaires fonctionnels associant probiotiques et extraits de plantes médicinales, ainsi que dans des stratégies thérapeutiques personnalisées basées sur le profil du microbiote individuel (da Anunciação *et al.*, 2024).

Chapitre IV: GUMMIES

IV.1 Définition des Gummies

Les gummies sont, à la base, une forme solide destinée à être mâchée, empruntée à l'univers de la confiserie. C'est en Allemagne, dans les années 1920, que les premières préparations de ce type ont vu le jour, en exploitant les qualités texturales de la gélatine pour obtenir une friandise à la fois douce et élastique (**Khadri et al., 2025**).

Ce n'est que vers la fin du XXe siècle et le début du XXIe siècle que les gummies ont commencé à s'imposer comme vecteurs de principes actifs dans le domaine des nutraceutiques et des compléments alimentaires. Cette évolution répondait à un besoin concret : trouver des alternatives plus acceptables que les comprimés vitaminés encombrants, notamment pour les enfants et les personnes âgées (**Khadri et al., 2025**).

D'un point de vue structurel, les gummies se présentent comme des hydrogels sucrés et parfumés, dont la cohésion repose sur une matrice polymérique hydrophile. Leur composition intègre typiquement un agent gélifiant (6 à 10 %), un édulcorant de charge (65 à 75 %), de l'eau (16 à 18 %), des arômes et colorants (2 à 4 %), ainsi que les principes actifs proprement dits (3 à 10 %) (**Softigel by Procaps, 2017 ; Azazza M .H ,2024 ; Burey P et al ,2009**).



Figure 07 : Les gummies (Anonyme1).

IV.2. Classification des gummies

Les gummies, ou gommes gélifiées, représentent une forme galénique destinée à être mâchée (forme à mastiquer), située à la frontière entre la confiserie et la forme pharmaceutique. Depuis la révision de 2021 du chapitre général <1151> de la Pharmacopée américaine (USP),

elles sont officiellement reconnues sous l'appellation de « gels à mâcher » (*Chewable Gels*), définies comme des préparations administrées par voie orale, qui conservent leur forme moulée, demeurent élastiques et se laissent mâcher avant la déglutition (**USP-NF <1151>, 2021**).

Les gummies se classent scientifiquement selon l'agent gélifiant qui les compose, car celui-ci détermine leur texture, leur fermeté et leur conformité aux régimes alimentaires. On distingue principalement :

- 1 . La gélatine : agent d'origine animale, offrant une texture élastique et une sensation de fonte en bouche, mais incompatible avec les régimes végétariens et halal.
- 2 . La pectine : agent d'origine végétale, convenant aux régimes véganes et halal, à la texture plus ferme et cassante.
- 3 . L'agar-agar : extrait d'algues marines, donnant une texture fragile.
4. Le carraghénane, l'amidon modifié et la gomme arabique : agents complémentaires utilisés seuls ou en combinaison pour ajuster la consistance finale.

Selon leur composition et leur finalité, les gummies se répartissent en trois catégories distinctes :

1. La confiserie classique : sans principe actif ni allégation de santé.
2. Les gummies nutraceutiques : enrichies en vitamines, minéraux, probiotiques ou extraits de plantes, avec une allégation de santé (sans visée thérapeutique).
3. Les gummies pharmaceutiques (*medicated gummies*) : contenant un principe actif à dose précise et à visée thérapeutique.

Au sein des formes orales, les gummies appartiennent à la famille des pastilles, dont elles constituent le type mastiquable, se distinguant des pastilles dures à dissolution lente et des comprimés à mâcher obtenus par compression (**Allen, 2020 ; Tarahi et al., 2024**).

IV.3. Catégories des gummies

Les gummies nutraceutiques se répartissent en plusieurs catégories selon leur fonction physiologique et la nature de leurs principes actifs

❖ Gummies vitaminées : contenant des multivitamines, de la vitamine D3, de la vitamine C ou des vitamines du groupe B. Elles constituent la catégorie la plus répandue sur le marché.

❖ Gummies minérales : apportant du fer, du zinc, du magnésium ou du calcium, avec une dose limitée par les contraintes de goût.

❖ Gummies à base de plantes (*phytothérapie*) : intégrant des extraits végétaux tels que l'ashwagandha (*Withanai somnifera*), le curcuma ou la valériane ; il s'agit de la catégorie la plus dynamique actuellement.

❖ Gummies probiotiques : renfermant des souches bactériennes bénéfiques (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*), de préférence des souches résistantes au procédé de fabrication.

❖ Gummies anti-stress et favorisant le sommeil : associant la mélatonine, l'ashwagandha, le GABA ou la L-théanine.

❖ Gummies aux oméga-3 : apportant des acides gras essentiels (EPA et DHA).

❖ Gummies pédiatriques et gummies pour adultes : se distinguant par le dosage et la composition, les adultes représentant la majorité des consommateurs.

Le marché mondial des gummies fonctionnelles connaît une croissance soutenue, avec un taux de croissance annuel estimé entre 10 et 15 %, porté par la demande croissante en plantes adaptogènes, en formulations sans sucre et en matrices végétales (**Tarahi et al., 2024 ; Grand View Research, 2025**).

Le marché mondial des gummies fonctionnelles connaît une croissance soutenue, avec un taux de croissance annuel estimé entre 10 et 15 %, porté par la demande croissante en plantes adaptogènes, en formulations sans sucre et en matrices végétales (**Tarahi et al., 2024 ; Grand View Research, 2025**).

IV.4. Composition des Gummies

IV.4.1. Vue d'ensemble de la composition

La formulation d'un gummy fait appel à plusieurs familles d'ingrédients, chacune jouant un rôle bien défini dans la structure, la texture, la palatabilité et l'efficacité du produit fini. L'agent gélifiant constitue le squelette que l'eau, qui représente entre 16 et 18 % du produit final, assure la solubilisation des composants et régule la consistance de l'ensemble (**Softigel by Procaps, 2017**).



Tableau 02 : Composition standard d'une formulation gummy et rôles fonctionnels des composants (Softigel by Procaps, 2017 ; Khadri et al., 2025 ; Burey P et al ,2009).

Composant	Proportion (%)	Rôle fonctionnel
Agent gélifiant	6 – 10	Confère la structure et la texture masticable
Édulcorant en masse	65 – 75	Palatabilité, consistance et masse du gummy
Eau	16 – 18	Solvant universel, régulateur de consistance
Arômes et colorants	2 – 4	Amélioration organoleptique et appel visuel
Principe(s) actif(s)	3 – 10	Activité biologique ou nutraceutique recherchée
Humectants (sorbitol, glycérine)	Variable	Rétention d'humidité, prévention du dessèchement
Acidifiants (ex. acide citrique)	Variable	Ajustement du pH, palatabilité, conservation

IV.4.2. Les agents gélifiants

Parmi tous les choix formulatoires, la sélection de l'agent gélifiant est sans doute la plus décisive : c'est lui qui conditionne directement la texture, la stabilité et l'aptitude du produit à convenir aux différentes populations cibles. On l'intègre généralement à des concentrations allant de 1 à 7 % de la formulation totale (**Softigel by Procaps, 2017**).

a) La gélatine animale

Extraite du collagène présent dans les peaux et ossements de bovins ou de porcins, la gélatine animale reste l'agent gélifiant le plus utilisé dans la fabrication des gummies. Elle confère au produit sa texture élastique et masticable caractéristique, formant un gel thermo-réversible qui fond à la chaleur. Son utilisation soulève néanmoins des questions religieuses importantes, notamment vis-à-vis des exigences halal et casher, en plus des préoccupations

sanitaires liées aux maladies à prions. Ces limites ont naturellement orienté la recherche vers des alternatives d'origine végétale (Khadri *et al.*, 2025 ; Waraczewski *et al.*, 2022).

b) La gélatine végétale (halal)

Issue d'hydrocolloïdes végétaux comme l'amidon, la pectine ou le carraghénane, la gélatine végétale représente une solution aux contraintes religieuses et sanitaires évoquées précédemment. Sa meilleure stabilité thermique par rapport à la gélatine animale, combinée à son origine végétale, en fait un choix idéal pour les formulations destinées aux consommateurs halal, casher ou véganes (Waraczewski *et al.*, 2022 ; Sayed Kutub Ali *et al.*, 2025).

c) La pectine et l'agar-agar

La pectine, tirée des parois cellulaires végétales principalement des agrumes et des pommes, donne une texture plus souple et un gel thermo-stable une fois solidifié, ce qui la rend particulièrement adaptée aux formulations véganes. L'agar-agar, le carraghénane et l'amidon constituent d'autres options végétales, utilisées seules ou en combinaison pour ajuster finement la texture et la consistance du produit fini (Khadri *et al.*, 2025 ; Dengane *et al.*, 2024).

*Tableau 03 : Comparaison des principaux agents gélifiants utilisés dans la formulation des gummies (Khadri *et al.*, 2025 ; Waraczewski *et al.*, 2022 ; Dengane *et al.*, 2024 ; Azazze *et al.*, 2024 ; Burey P *et al.*, 2009).*

Critère	Gélatine animale	Gélatine végétale (halal)	Pectine	Agar-agar
Origine	Bovin / Porcin	Hydrocolloïdes végétaux	Agrumes / Pommes	Algues rouges
Texture	Élastique, masticable	Satisfaisante, ferme	Tendre, fondante	Ferme, gelée
Stabilité thermique	Faible (thermo-réversible)	Bonne	Très bonne (thermo-stable)	Très bonne
Statut halal/vegan	Non	Oui	Oui	Oui
Concentration utilisée	1 – 7 %	6– 10 %	2 – 6 %	1 – 3 %
Disponibilité locale	Limitée	Commerces spécialisés	Moyenne	Moyenne
Choix retenu	Non	✓ Oui	Non	Non

IV.4.3. Les édulcorants naturels

Traditionnellement, les gummies reposent sur le saccharose et le sirop de glucose comme édulcorants de charge. Ces sucres comportent toutefois des inconvénients bien connus : apport

calorique élevé, indice glycémique important et risque de caries. Pour répondre aux attentes croissantes des consommateurs soucieux de leur santé, les formulations modernes leur substituent des édulcorants naturels, en particulier le sirop ou la poudre de dattes (*Phoenix dactylifera*). Ces dernières offrent un profil nutritionnel nettement plus avantageux, avec des sucres naturels (fructose, glucose), des fibres alimentaires, des minéraux et des composés phénoliques à pouvoir antioxydant, pour un indice glycémique modéré (**Khadri *et al.*, 2025 ; Ben Mya *et al.*, 2017 ; Maqsood *et al.*, 2020 ; Lajnef *et al.*, 2021**).

IV.4.4. L'eau et les autres excipients

En complément de l'eau et de l'agent gélifiant, la formulation fait appel à une série d'excipients fonctionnels. Les humectants sorbitol et glycérine en tête sont incorporés pour éviter le dessèchement de la matrice. Les acidifiants, comme l'acide citrique, servent à ajuster le pH et à équilibrer la note sucrée. Enfin, des arômes et colorants naturels, dosés entre 2 et 4 %, viennent parachever les qualités sensorielles du produit fini (**Softigel by Procaps, 2017 ; Khadri *et al.*, 2025**).

IV.5. Procédé de fabrication des Gummies

- **Vue d'ensemble du procédé**

La fabrication des gummies est un processus technique exigeant, qui enchaîne de manière ordonnée des phases de chauffage, de mélange et de moulage, dans le but d'aboutir à une forme galénique homogène, appétissante et stable dans le temps. Chaque étape est pensée pour assurer une dissolution complète des agents gélifiants, une répartition uniforme des principes actifs et l'obtention de la texture finale recherchée (**Khadri *et al.*, 2025**).

- **Étapes du procédé**

- **Étape 1 : Pesée et préparation des ingrédients**

On commence par peser avec précision chacun des ingrédients, conformément à la formule retenue. Les principes actifs, les agents gélifiants, les édulcorants, les arômes et les colorants sont préparés séparément avant d'être réunis. Le soin apporté à cette étape détermine directement l'homogénéité en principe actif du produit fini (**Sayed Kutub Ali *et al.*, 2025 ; Dengane *et al.*, 2024**).

- **Étape 2 : Préparation et chauffage de la solution**

Le principe actif est dissous ou dispersé dans une solution aqueuse chauffée, incorporant l'agent gélifiant, les plastifiants, les édulcorants, les arômes et les colorants. La température est maintenue entre 70 et 75°C, niveau qui permet la fusion complète de l'agent gélifiant tout en préservant la stabilité des principes actifs thermosensibles (**Khadri et al., 2025 ; Dengane et al., 2024**).

Étapes 3 à 8 : Dégazage, moulage, refroidissement, démoulage, séchage et conditionnement

Une fois le chauffage terminé, un dégazage sous vide partiel permet d'éliminer les bulles d'air susceptibles d'affecter l'homogénéité du produit. La solution est ensuite versée dans des moules par la technique du moulage à l'amidon (Starch Mogul), puis refroidie pendant au moins 30 minutes à température ambiante ou 24 heures à 4°C pour permettre la prise en gel. Les gummies sont ensuite démoulés, polis avec un lubrifiant végétal, puis séchés si nécessaire pour abaisser l'activité de l'eau en dessous de 0,75. Le conditionnement dans des emballages à haute barrière à l'humidité garantit une durée de conservation de 18 à 24 mois (**Khadri et al., 2025 ; Dengane et al., 2024 ; Softigel by Procaps, 2017**).

IV.6. Utilisations des gummies

Grâce à leur facilité d'administration et à leur goût agréable, les gummies s'adressent à un large éventail de populations.

- **Les enfants** les apprécient particulièrement, car ils préfèrent les textures molles et sucrées aux comprimés, ce qui améliore nettement l'observance du traitement (**Dhal et al., 2023**).

- **Les adultes** constituent le principal groupe d'utilisateurs, séduits par l'association du plaisir et du bien-être.

- **Les personnes âgées et les patients souffrant de troubles de la déglutition (dysphagie)** y trouvent une alternative précieuse aux comprimés et gélules, souvent responsables d'une mauvaise observance (**Logrippo et al., 2017 ; Abd Aziz et al., 2022**).

Parmi ses principaux avantages, la forme gummy améliore l'observance du traitement, masque efficacement l'amertume de principes actifs tels que l'ashwagandha, et peut offrir une biodisponibilité comparable, voire supérieure, à celle des comprimés, comme cela a été démontré pour la vitamine D3 (**Wagner et al., 2019**).



Cette forme impose néanmoins **certaines précautions** :

- **La teneur élevée en sucre**, qui en limite l'usage chez les personnes diabétiques.
- **Le risque de surdosage**, particulièrement préoccupant chez l'enfant susceptible de confondre la gummy avec une friandise (**Lelak et al., 2022**).
- **La variabilité possible** entre la dose indiquée sur l'étiquette et la dose réellement présente (**Cohen et al., 2023**).

Enfin, certaines populations exigent une vigilance particulière : les femmes enceintes *et* allaitantes, les mineurs et les personnes atteintes de pathologies thyroïdiennes ou hépatiques, pour lesquelles l'Agence nationale de sécurité sanitaire (**ANSES, 2024**) déconseille formellement la consommation de préparations à base de *Withanai somnifera*.

IV.7. Intérêt des Gummies

a) Observance et acceptabilité patient

Aujourd'hui, les gummies s'affirment comme une forme galénique innovante, pensée avant tout pour le patient. Ils permettent de délivrer aussi bien des médicaments sur ordonnance que des compléments alimentaires en accès libre. Ce qui les distingue des formes classiques, c'est avant tout leur facilité de prise, l'absence totale de contrainte de déglutition et des qualités organoleptiques généralement bien acceptées (**Sayed Kutub Ali et al., 2025**).

b) Populations cibles

Cette forme galénique s'avère particulièrement adaptée aux populations les plus fragiles : enfants, personnes âgées et patients dysphagiques. Des travaux menés sur des molécules comme la Lamotrigine et la Risperidone ont montré que leur formulation en gummies améliorait sensiblement la palatabilité et favorisait l'adhésion au traitement (**Khadri et al., 2025**).

c) Avantages pratiques pour le consommateur

Sur le plan pratique, les gummies présentent de nombreux atouts pour le consommateur : ils se prennent sans eau, ne posent aucune difficulté de déglutition, n'entraînent pas d'effets



secondaires digestifs notables et peuvent être consommés à tout moment. Ils constituent par ailleurs une alternative nutritionnellement raisonnable aux collations sucrées classiques (**Softigel by Procaps, 2017**).

d) Croissance du marché

Sur le marché des compléments alimentaires, les gummies se classent au deuxième rang des formes les plus populaires, tout en affichant les taux de croissance les plus élevés du secteur. Leur domaine d'application s'est largement élargi au-delà des simples multivitamines, couvrant désormais les fibres, la santé cardiovasculaire et visuelle, la nutrition prénatale, la gestion du poids ou encore la nutrition sportive (**Softigel by Procaps, 2017 ; WHO, 2009**).

IV.8. Avantages et limites des Gummies

IV.8.1. Avantages

a) Flexibilité de formulation et potentiel d'application

Les gummies offrent une grande liberté de formulation, permettant d'incorporer une large variété de principes actifs vitamines, minéraux, extraits phytothérapeutiques, probiotiques dans des formes, des tailles (de 2 à 8 grammes), des couleurs et des arômes très variés. C'est cette adaptabilité qui a permis à cette forme galénique de conquérir pratiquement tous les segments du marché des compléments alimentaires (**Sayed Kutub Ali et al., 2025 ; Softigel by Procaps, 2017 ; Khadri et al., 2025**).

b) Masquage du goût et renforcement de l'observance

La matrice gélifiée sucrée et aromatisée enveloppe efficacement les principes actifs, atténuant sensiblement la perception des notes amères ou de fermentation. Cet atout est particulièrement précieux pour des substances comme l'Ashwagandha et la poudre de Kéfir, dont les qualités organoleptiques peu engageantes peuvent décourager une prise régulière. En masquant ces saveurs, les gummies contribuent directement à améliorer la constance de la prise, surtout dans le cadre de traitements de longue durée (**Khadri et al., 2025 ; Dengane et al., 2024**).



IV.8.2. Limites

a) Limitation de dose et instabilité des principes actifs

La contrainte principale des gummies réside dans la dose maximale qu'il est possible d'y incorporer, généralement limitée à 500 mg par unité. À cela s'ajoute la chaleur du procédé entre 70 et 75°C qui peut altérer les principes actifs thermosensibles. Les probiotiques comme le Kéfir sont particulièrement concernés : leur viabilité microbienne ne peut être préservée que si leur incorporation intervient hors chauffage, lors de la phase de refroidissement de la masse (Khadri *et al.*, 2025 ; Dengane *et al.*, 2024).

b) Contrôle qualité et durée de conservation

La fabrication des gummies pose des défis techniques réels, notamment en matière de contrôle de l'uniformité de teneur et de l'activité de l'eau. La standardisation des extraits phytothérapeutiques représente un problème récurrent, en raison de la variabilité naturelle inhérente aux compositions végétales. La durée de conservation se limite à 18–24 mois, et la nature hygroscopique de la matrice rend le produit particulièrement sensible aux conditions de stockage, imposant un conditionnement adapté (Khadri *et al.*, 2025 ; Dengane *et al.*, 2024).

IV.9. Argumentaire du choix de la forme Gummies

Dans ce travail, le choix de la forme gummies repose sur deux types de justifications qui se complètent. La première est organoleptique : *Withanai somnifera* L se distingue par une amertume marquée due à ses withanolides et alcaloïdes, tandis que la grains de Kéfir dégage une odeur de fermentation prononcée. Comme évoqué à la section 4.1, la matrice gélifiée sucrée et aromatisée des gummies est particulièrement bien adaptée au masquage de ce type de saveurs indésirables. La seconde justification est d'ordre pharmacologique : la population ciblée des personnes souffrant d'anxiété et de stress chroniques a besoin d'une observance régulière et soutenue pour que les effets thérapeutiques puissent pleinement se manifester (Khadri *et al.*, 2025 ; Mikulska *et al.*, 2023 ; Akli & Ould Saadi, 2023).

D'un point de vue mécanistique, l'association de ces deux principes actifs dans une même formulation s'avère particulièrement pertinente. La *Withanai somnifera* L exerce son action adaptogène en modulant principalement l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et en réduisant les taux circulants de cortisol. Le Kéfir, quant à lui, agit comme psychobiotique via l'axe intestin-cerveau, en remodelant le microbiote intestinal et en influençant la production de neurotransmetteurs tels que le GABA et la sérotonine. Cette complémentarité action centrale

pour *Withanai somnifera* , action périphérique via le microbiote pour le Kéfir justifie pleinement leur co-administration dans une formulation à cibles multiples (**Kaul & Wadhwa, 2017 ; Aburto & Cryan, 2024 ; Zhou & Foster, 2015**).

IV.9.1. Justification du choix des excipients

Agent gélifiant : gélatine végétale halal

Pour la gélification de nos gummies, nous avons opté pour une gélatine végétale halal, que nous nous sommes procurée auprès des magasins de confiserie de la wilaya d'Oued Souf. Nous avons préféré cet agent à l'agar-agar un gélifiant également d'origine végétale, extrait d'algues rouges en raison de ses meilleures propriétés de texture et de maniabilité tout au long du procédé de fabrication. Ce choix se justifie par des travaux antérieurs qui ont mis en évidence la supériorité de la gélatine végétale sur le plan de l'élasticité et de la cohésion du réseau gélifié (**Waraczewski et al., 2022 ; Azazze et al., 2024**).

Édulcorant naturel : sirop ou poudre de dattes Deglet Nour (wilaya d'Oued Souf)

Le saccharose industriel a été remplacé par le sirop ou la poudre de dattes Degla Beida de la wilaya d'Oued Souf, pour deux raisons convergentes. D'abord, la disponibilité locale de cette matière première dans l'une des principales régions phoenicicoles d'Algérie garantit un approvisionnement à la fois accessible et économique. Ensuite, en plus du profil nutritionnel avantageux présenté à la section 2.3, des études dédiées à la datte Deglet Nour algérienne ont confirmé que sa composition en sucres naturels et en composés bioactifs en fait un substitut particulièrement adapté au saccharose dans les formulations alimentaires fonctionnelles (**Ben Mya et al., 2017 ; Ali Haimoud & Allem, 2023 ; Djaoud et al., 2020 ; Lajnef et al., 2021**).

Acidifiant : acide citrique

L'acide citrique a été choisi pour ajuster le pH de la formulation, tempérer la note sucrée des dattes et contribuer à la conservation naturelle du produit final (**Sayed Kutub Ali et al., 2025**).

IV.10. Note sur l'incorporation du Kéfir

Le Kéfir est un complexe probiotique contenant des micro-organismes vivants, ce qui impose une contrainte majeure lors de la fabrication : il ne peut être incorporé qu'après la phase de chauffage, une fois la température de la solution redescendue sous les 40°C. Au-delà de 50°C, la flore microbienne du Kéfir est irréversiblement détruite, annulant du même coup ses propriétés probiotiques et psychobiotiques. Cette contrainte a donc été prise en compte dès la conception du protocole de fabrication, avec l'ajout de la poudre de Kéfir lyophilisé prévu lors



de la phase de refroidissement (**Akli & Ould Saadi, 2023 ; Beghedadi & Bouzrara, 2022 ; Khadri et al., 2025**).

IV.11. Objectifs de notre formulation

La formulation de gummies *Withanai somnifera* L+ Kéfir développée dans ce travail poursuit cinq objectifs complémentaires. Premièrement, proposer une forme galénique agréable à la prise, capable de masquer les caractéristiques organoleptiques peu attractives des deux principes actifs et de soutenir l'observance sur le long terme. Deuxièmement, valoriser les ressources naturelles locales de la wilaya d'Oued Souf en l'occurrence la datte Deglet Nour au sein d'une formulation innovante de complément alimentaire fonctionnel. Troisièmement, assurer une répartition homogène des principes actifs dans chaque unité pour garantir l'uniformité de dose. Quatrièmement, préserver la viabilité du complexe probiotique du Kéfir grâce à un protocole d'incorporation post-chauffage rigoureux. Cinquièmement, évaluer la stabilité physicochimique et microbiologique de la formulation optimisée (**Khadri et al., 2025 ; Kaul & Wadhwa, 2017 ; Aburto & Cryan, 2024 ; Ben Mya et al., 2017**).

Deuxième partie
Partie expérimentale

Chapitre I
Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de d'El Oued, en Algérie. La recherche visait à préparer des gommages à mâcher à base d'extrait de racine d'ashwagandha (*Withanai somnifera* L.) et de probiotiques de kéfir, afin d'étudier leur effet sur la réduction de Biochimie de la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie de l'Université l'anxiété et du stress.

I.1. Matériels biologiques

I.1.1. Ashwaganda

La plante utilisée dans cette étude appartient à la famille des Solanacées, et plus précisément à l'ashwagandha (*Withanai somnifera* L.). Les racines séchées de la plante ont été récoltées en novembre 2025 dans la région de Biskra (Algérie).



Figure 08 : Photo de l'échantillon de racine d'Ashwagandha provenant de la ferme EL-Kiram Biskra (Photo original, 2026)

I.1.2 Kéfir

Les grains de kéfir sont utilisés comme matière première biologique dans cette méthode. Le kéfir est un produit fermenté contenant un mélange de bactéries lactiques et de foie. Les grains de kéfir sont conservés et utilisés pour préparer une fermentation supplémentaire destinée aux expériences animales.



Figure 09 : Kéfir d'eau et kéfir de lait : deux photos réelles de boissons probiotiques fermentées naturellement

I.1.3 RATS

Les expériences ont été réalisées sur des rats blanches de souche NMRI, mâles, dont le poids corporel variait entre 300 et 328 g. Au total, 19 souris ont été utilisées, obtenues auprès de l'Unité des animaux expérimentaux de l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été élevés au sein de l'animalerie expérimentale de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Chahid Hamma Lakhdar d'El Oued, où ils ont été maintenus dans des conditions d'élevage appropriées, dans des cages transparentes en polypropylène, à une température comprise entre 25 et 30 °C.

La nourriture et l'eau ont été fournies ad libitum aux souris. Elles ont bénéficié d'une période d'acclimatation en environnement de laboratoire pendant plusieurs jours avant le début des expériences, afin de réduire l'impact du stress environnemental sur les résultats expérimentaux.

I.2. Méthodes

I.2.1. Séchage et broyage de la plante

Les racines fraîches d'ashwagandha ont été soigneusement lavées à l'eau afin d'éliminer les impuretés et les particules de saleté, puis découpées en petits morceaux homogènes. Ensuite, un tri manuel a été effectué pour éliminer les parties endommagées ou infectées, en ne conservant que les parties saines. Les morceaux sélectionnés ont été séchés dans une étuve à 60

°C pendant toute une nuit jusqu'à obtention d'une matière sèche. Enfin, les racines séchées ont été broyées à l'aide d'un mixeur électrique afin d'obtenir une poudre fine et homogène, puis conservées dans des récipients hermétiquement fermés jusqu'à leur utilisation. (Guoda *et al.*,2015).

I.2.2 .Préparation de l'échantillon

I.2.2.1 Preparation de échantillon d'Ashwagandha

Nous avons prélevé (5 g) de poudre de racines de *Withanai somnifera* ,séchées , puis les avons placées dans un ballon en verre de 250 mL équipé d'un réfrigérant à reflux. Nous avons ajouté 50 mL de méthanol à 95 %, puis le mélange a été chauffé sous reflux dans un bain-marie pendant 10 à 15 minutes.

Ensuite, le mélange a été laissé refroidir à température ambiante, puis filtré afin de récupérer le filtrat. L'extraction du résidu végétal a été répétée trois jours consécutives avec 50 mL de méthanol à 95 % à chaque fois, afin d'assurer une extraction optimale des composés actifs.

Les filtrats obtenus ont été réunis, puis concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotary evaporator) sous pression réduite (vide) à une température de 40–45 °C jusqu'à obtention d'un extrait semi-sec.

Enfin, l'extrait a été séché dans une étuve (oven) à basse température pendant 48 heures, jusqu'à obtention d'un extrait sec et de masse constante (Figure 09).

I.2.2.2 Préparation de l'échantillon de kéfir

Pour préparer notre échantillon de kéfir, nous avonsensemencé des grains de kéfir dans un substrat composé de lait additionné d'eau, puis nous avons laissé fermenter le mélange à température ambiante (20–25 °C) pendant 24 à 48 heures, à l'abri de la lumière. Une fois la fermentation achevée, nous avons filtré la préparation afin de séparer les grains du liquide fermenté. Nous avons ensuite conservé le kéfir obtenu au réfrigérateur (4 °C), et nous l'avons incorporé à notre formulation à une température inférieure à 40 °C, afin de préserver la viabilité et l'activité biologique des micro-organismes probiotiques.

I.2.3. Rendement de l'extrait brut

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé via l'équation:

$$R(\%) = (Me / Mv) \times 100$$

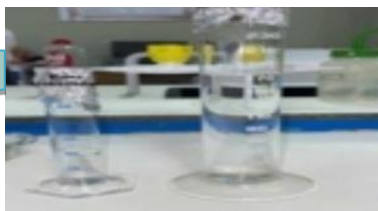
R(%) : Rendement en %

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

g du matériel végétal (poudre)+10ml de éthanol

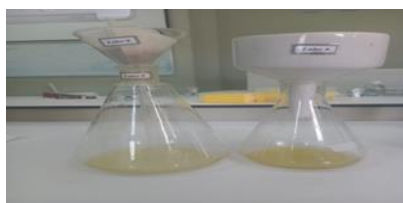
Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.



Le mélange homogénéisé a été placé dans un bain-marie pendant 15 minutes, puis laissé au repos pendant 24 heures.



Filtration et Évaporation



Séchage en étuve pendant au moins 48 heures à la température ne dépassant 40°C



Calcul du rendement

Figure 10 : Schéma du protocole de préparation de l'extrait alcoolique des racines de *Withanai somnifera* L. par macération.

I.2.4. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques ont pour objectif principal la mise en évidence des différentes familles de métabolites secondaires présentes dans la partie étudiée de la plante, à l'aide de réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration spécifiques à chaque groupe de composés, ainsi que sur des observations en lumière ultraviolette (**Haoulai,2014**).

❖ phénoliques

On a prélevé 2 ml de l'extrait alcoolique, puis quelques gouttes de la solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 5 % ont été ajoutée.

Résultat: L'apparition d'une coloration bleu foncé tirant vers le noir indique la présence des composés phénoliques dans l'extrait.(**Mezreguet et Ben Houd .,2023**).

❖ Flavonoïdes

Une quantité de 0,2 g de chaque extrait a été dissoute dans une solution diluée de NaOH (0,1 N), suivie de l'ajout de quelques gouttes de HCl. L'apparition d'une coloration jaune qui disparaît ensuite pour devenir incolore indique la présence des flavonoïdes.

❖ Saponines

Environ 0,2 g de chaque extrait ont été mélangés avec 5 mL d'eau distillée, puis portés à ébullition. La formation d'une mousse crémeuse stable accompagnée de petites bulles a indiqué la présence des saponines.

❖ tanins

Une petite quantité de chaque extrait a été mélangée avec de l'eau, ce 'hauffée au bain-marie, puis filtrée. Quelques gouttes de chlorure ferrique ont été ajoutées au filtrat. L'apparition d'une coloration vert foncé a indiqué la présence des tanins (**Priya et Sharma,2022**).

❖ alcaloïdes

Environ 0,2 g de chaque extrait a été chauffé avec de l'acide sulfurique à 2 % (H_2SO_4) pendant 2 minutes. Le mélange a ensuite été filtré, puis quelques gouttes du réactif de Dragendorff ont été ajoutées au filtrat. La formation d'un précipité orange-rouge indique la présence d'alcaloïdes.

❖ glycosides

Chaque extrait végétal a été hydrolysé à l'aide de HCl, puis neutralisé avec une solution de NaOH. Ensuite, quelques gouttes de la solution de Fehling ont été ajoutées au mélange. La formation d'un précipité rouge brique indique la présence de glycosides.

❖ Terpénoïdes

Environ 0,2 g de chaque extrait végétal a été mélangé avec 2 mL de chloroforme. Ensuite, 3 mL d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) ont été ajoutés délicatement le long de la paroi du tube à essai afin de former une couche séparée. L'apparition d'une coloration brun rougeâtre à l'interface entre les deux couches indique un résultat positif pour la présence de terpénoïdes (Wuhihe *et al.*,2021).

I.2.5. Analyses quantitatives

I.2.5.1. Dosage de polyphénols totaux

La teneur totale en composés phénoliques des extraits végétaux a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu method, telle que décrite par Meriem Cette méthode repose sur la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu par les composés phénoliques, conduisant à la formation d'un complexe bleu en milieu alcalin.

À cet effet, 200 μ l de l'extrait ont été prélevés, puis mélangés avec 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué dix fois. Après agitation, le mélange a été laissé au repos pendant 4 minutes à température ambiante. Ensuite, 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium à 75 g/L ont été ajoutés. Après homogénéisation, les tubes ont été incubés pendant 2 heures à température ambiante.

Enfin, l'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide gallique Gallic acid standard curve a été utilisé comme standard pour établir la courbe d'étalonnage à des concentrations comprises entre 20 et 160 μ g/ml. Les résultats ont été exprimés en équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche d'extrait.(Djermouni,2014).

I.2.5.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes des extraits a été déterminée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium.Cette méthode repose sur la formation d'un complexe stable aluminium-flavonoïde en milieu faiblement acide, produisant une coloration jaune dont

l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 430 nm. Un millilitre d'extrait a été mélangé à un millilitre d'une solution de chlorure d'aluminium à 2 % (m/v), et le mélange a été incubé à température ambiante

pendant 15 minutes. L'absorbance mesurée est proportionnelle à la concentration totale en flavonoïdes de l'échantillon. **(Benoudina et Guetteche, 2024).**

I.2.5.3. Dosage des tanins condensés

La teneur en tanins condensés dans les extraits de *Withanai somnifera* L a été déterminée selon la méthode à la vanilline. Cette méthode repose sur la réaction de la vanilline avec les composés catéchiques en milieu acide, où le groupement aldéhyde de la vanilline se fixe sur l'atome de carbone numéro 6 du cycle A de la catéchine, entraînant la formation d'un complexe rouge dont l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 500 nm.

Pour réaliser l'analyse, 400 µL de chaque échantillon ou solution standard ont été mélangés avec 3 mL de solution de vanilline à 4 % dans le méthanol, puis 1,5 mL d'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutés. Les mélanges ont ensuite été incubés pendant 15 minutes à température ambiante, puis l'absorbance a été mesurée à 500 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration des tanins condensés a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la catéchine à des concentrations comprises entre 0 et 0,5 mg/mL, et les résultats ont été exprimés en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g d'extrait). **(Tlili, 2014).**

I.2.6. Activités biologiques

I.2.6.1. Activités antioxydant (test DPPH)

DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) est un radical libre stable, caractérisé par sa couleur violette et son absorption à une longueur d'onde de 517 nm. En présence de composés capables de neutraliser les radicaux libres, ce radical est réduit, entraînant un changement de couleur du violet au jaune. Les valeurs d'absorbance mesurées à 517 nm sont utilisées pour calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, lequel est directement proportionnel à la capacité de l'échantillon à neutraliser les radicaux libres et à manifester son activité antioxydante. **(Kanoun, 2010).**

I.2.6.1.1 Mode opératoire

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Withanai somnifera* L a été évaluée par le test de piégeage du radical libre DPPH, selon la méthode décrite par Touahria et Said. Un volume de 500 µL de chaque concentration d'extrait (0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,15 ; 0,2 ; 0,25 ; 0,3 ; 0,35 et 0,4 mg/mL) a été ajouté à 500 µL d'une solution méthanolique de DPPH à 0,25 mg/mL.

Le témoin a été préparé en mélangeant 500 µL de l'extrait méthanolique avec 500 µL de méthanol à la place de la solution de DPPH, avec deux répétitions pour chaque concentration. Ensuite, les tubes ont été bien agités puis incubés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance a ensuite été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La Vitamine C (acide ascorbique) a été utilisée comme standard de référence pour l'activité antioxydante. Les mêmes concentrations (0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,15 ; 0,2 ; 0,25 ; 0,3 ; 0,35 et 0,4 mg/mL) ont été préparées et traitées dans les mêmes conditions, puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm. (Touhria et Said,2020).

L'activité antioxydante liée à l'effet de piégeage du radical DPPH est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) à l'aide de la formule suivante:

$$\text{PI ou DPPH piégeur de radicaux (\%)} = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100$$

A₀ : est l'absorbance de la réaction témoin.

A_s : est l'absorbance de la solution échantillon contenant le composé d'essai.

Les valeurs IC₅₀ ont été calculées à partir du linéaire équation de l'activité de piégeage en fonction des concentrations des échantillons. Les IC₅₀ sont définis comme l'antioxydant total nécessaire pour diminuer de 50% le radical libre DPPH, plus la valeur IC₅₀ est basse plus l'activité antioxydante du composé est élevée. (Bouhamed *et al*,2023)

I.6.2.2. Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

pouvoir réducteur d'un extrait reflète son activité antioxydante. Cette méthode est utilisée pour évaluer l'aptitude des extraits étudiés à transformer le fer ferrique (Fe³⁺) du ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺) (Atti.,2013).

Un volume de 250 μL de différentes concentrations des extraits a été mélangé avec 625 μL de tampon phosphate (0,2 M ; pH = 6,6) et 625 μL de solution de ferricyanure de potassium à 1 %. Après incubation du mélange dans un bain-marie à 50 °C pendant 20 minutes, 625 μL d'acide trichloroacétique ont été ajoutés. Le mélange a ensuite été centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 minutes.

Par la suite, 625 μL du surnageant ont été mélangés avec 625 μL d'eau distillée et 125 μL de chlorure ferrique, puis l'absorbance a été mesurée à 700 nm (**Chekima et Kram.,2023**).

I.7. Etude in vivo

I.7.1 Constitution des groupes expérimentaux

Après une période d'adaptation de 10 jours, les rats mâles ont été pesés puis répartis en six groupes expérimentaux, pour un effectif total de 19 animaux. Ces groupes comprenaient deux groupes témoins et quatre groupes traités. Le groupe recevant l'association ashwagandha-kéfir était constitué de 4 rats, tandis que les autres groupes comprenaient chacun 3 rats.

Afin d'induire un état de stress et d'anxiété chez les animaux, tous les groupes ont été exposés à une lumière intense et continue pendant 24 heures par jour durant toute la période expérimentale, à l'exception du groupe témoin négatif, maintenu dans des conditions normales sans exposition lumineuse. Le groupe témoin positif a été soumis aux mêmes conditions lumineuses sans recevoir aucun traitement, dans le but de provoquer un stress expérimental et de servir de référence pour l'évaluation des effets des traitements administrés.

Après l'induction du stress, les groupes traités ont reçu les différents traitements prévus selon le protocole expérimental, tandis que les groupes témoins négatif et positif n'ont reçu aucun traitement. Les solutions administrées ont été préparées avec précision afin de garantir des doses adaptées au poids moyen des animaux, conformément aux doses rapportées dans des études antérieures.

Afin d'assurer l'identification individuelle des animaux et d'éviter toute confusion entre les groupes durant l'expérimentation, les rats ont été marqués au niveau de la queue avant le début des traitements.



I.7.2. Mesures physiologiques

Au cours de la période de traitement, le poids des rats traités et témoins a été mesuré quotidiennement avant l'administration des doses, afin de déterminer la dose orale appropriée et d'évaluer l'effet des solutions sur l'évolution pondérale des animaux, à l'aide d'une balance électronique. Par ailleurs, les quantités d'aliment et d'eau consommées par les rats ont été enregistrées quotidiennement durant toute la période expérimentale.

I.7.3. Protocole d'administration des traitements chez les rats expérimentaux

Tous les traitements ont été administrés par voie orale. Après une période d'acclimatation, les animaux ont été répartis comme suit :

❖ 1. Groupe témoin négatif

Ce groupe n'a reçu aucun traitement. Les animaux ont eu accès à de l'eau du robinet et à une alimentation standard tout au long de l'expérience, dans des conditions de vie normales.

❖ 2. Groupe témoin positif (groupe stress)

Un photostress chronique a été induit chez ce groupe par exposition à une lumière intense et continue afin de provoquer un stress physiologique, sans administration de médicament. Les animaux ont reçu uniquement de l'eau et une alimentation standard.

❖ 3. Groupe traité à l'ashwagandha

Ce groupe a reçu un extrait d'ashwagandha à la dose de 60 mg/kg/jour, dissous dans une quantité appropriée d'eau distillée pour assurer son homogénéité, puis administré par voie orale.

❖ 4. Groupe traité au kéfir

Les animaux ont reçu quotidiennement 1 ml de kéfir par souris. Le kéfir est une boisson fermentée riche en probiotiques contenant des bactéries et des levures bénéfiques qui contribuent à un meilleur équilibre du microbiote intestinal.

❖ 5. Groupe de traitement combiné (ashwagandha + kéfir)

Ce groupe a reçu quotidiennement une combinaison de 60 mg/kg d'extrait d'ashwagandha et de 1 ml de kéfir afin d'évaluer l'effet synergique entre la plante médicinale et le probiotique.

❖ 6. Groupe témoin (magnol stress)

Ce groupe a reçu par voie orale du magnol stress à la dose de 60 mg/kg/jour. Ce groupe témoin positif a permis de comparer l'efficacité de l'ashwagandha et du kéfir à celle d'un traitement anti-stress dont l'efficacité a été démontrée lors d'études cliniques.

I.7.4. Tests comportementaux

I.7.4.1. Test de nage forcée (Forced Swimming Test) (FST)

I.7.4.1.1. Principe du test

Le test de nage forcée (Forced Swimming Test, FST) est un modèle comportemental largement validé et utilisé en neurosciences et en pharmacologie pour l'évaluation

I.7.4.1.2. Dispositif expérimental

La standardisation du dispositif expérimental est cruciale pour garantir la reproductibilité des résultats. Le FST utilise un cylindre vertical transparent, généralement en plexiglas, rempli d'eau dont la température est rigoureusement maintenue à $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ afin de prévenir tout choc thermique ou altération métabolique susceptible d'influencer le comportement de l'animal (**Commons et al., 2017**).

La hauteur de la colonne d'eau est ajustée de manière spécifique (selon qu'il s'agisse de rats ou de souris) pour empêcher l'animal de toucher le fond avec ses pattes arrière ou sa queue, et pour éviter toute possibilité d'échappement par le haut (**Cryan et al., 2020**). Les dimensions du cylindre doivent assurer une liberté de mouvement suffisante tout en permettant une captation vidéo claire et une analyse comportementale fiable (**Commons et al., 2017**).

L'activité de type antidépresseur chez les rongeurs (**Commons et al., 2017**). Ce paradigme repose sur l'exposition de l'animal à un stress aquatique aigu et inévitable. Initialement, le rongeur présente une activité motrice intense, caractérisée par de la nage et des tentatives d'échappement (escalade), qui cède progressivement la place à une phase d'immobilité (**Cryan et al., 2020**). Cette immobilité est classiquement interprétée comme un état de renoncement ou de désespoir comportemental (behavioral despair), bien que des perspectives récentes y voient également une stratégie d'adaptation passive visant à économiser l'énergie (**Molendijk & de Kloet, 2019**). Dans ce cadre, une diminution significative du temps d'immobilité induite par une substance pharmacologique est considérée comme un indicateur prédictif d'un effet de type antidépresseur (**Cryan et al., 2020**).

I.7.4.1.3. Procédure expérimentale

Le protocole standard du FST se déroule généralement en deux phases distinctes. Une première phase de pré-exposition (ou session d'habituation), d'une durée habituelle de 15 minutes pour les rats, est réalisée afin d'induire une mémoire du stress inévitable et de stabiliser les niveaux d'immobilité lors du test ultérieur (**Molendijk & de Kloet, 2019**). La seconde phase, ou session de test proprement dite, intervient généralement 24 heures plus tard et dure 6 minutes. C'est durant cette session que les comportements sont enregistrés et quantifiés, notamment le temps d'immobilité, la nage active (swimming) et l'escalade (climbing) (**Cryan et al., 2020**). L'immobilité est opérationnellement définie comme l'absence totale de mouvements vigoureux, l'animal effectuant uniquement les micro-mouvements strictement nécessaires pour maintenir sa tête hors de l'eau (**Molendijk & de Kloet, 2019**).

❖ Variables mesurées et observations comportementales

Les comportements des animaux ont été enregistrés et chronométrés de manière continue durant une session de test standardisée d'une durée de 6 minutes dans le cadre du Forced Swimming Test (FST). À la fin de chaque essai, les rats ont été retirés de l'eau, soigneusement séchés à l'aide d'une serviette absorbante, puis replacés dans leurs cages d'hébergement. Cette procédure permet de limiter le stress thermique et de prévenir le risque d'hypothermie induite par l'exposition prolongée à l'eau.

Durant la session, trois paramètres comportementaux principaux ont été analysés et quantifiés :

1) L'immobilité

L'immobilité correspond à une absence quasi totale de mouvements actifs, durant laquelle l'animal flotte passivement dans l'eau en effectuant uniquement les micro-mouvements nécessaires pour maintenir sa tête à la surface. Ce comportement est actuellement interprété comme une stratégie d'adaptation passive (passive coping) face à une situation de stress inévitable, plutôt que comme une simple expression de « désespoir comportemental ». Il constitue le principal paramètre utilisé dans le FST pour évaluer l'effet de substances de type antidépresseur (**Molendijk & de Kloet, 2019**).

2) La natation (Swimming)

La natation est définie par des mouvements actifs horizontaux coordonnés, impliquant principalement les membres postérieurs, permettant à l'animal de se déplacer dans le cylindre. Ce comportement reflète une stratégie de coping actif et une tentative de recherche

d'échappement. Les données pharmacologiques indiquent que ce paramètre peut être influencé par plusieurs systèmes neurobiologiques, incluant notamment la neurotransmission sérotoninergique, en interaction avec d'autres systèmes modulateurs (**Molendijk et de Kloet, 2019**).

3) L'escalade (Climbing)

L'escalade correspond à des mouvements verticaux vigoureux le long des parois du cylindre en plexiglas, principalement réalisés à l'aide des membres antérieurs. Ce comportement représente une forme de réponse motrice active face au stress expérimental. Les études récentes suggèrent que les comportements actifs dans le FST, tels que l'escalade, sont modulés par des systèmes neurobiologiques multiples, incluant notamment les voies catécholaminergiques (**Commons et al., 2017**).

I.7.4.2. Test du labyrinthe en croix surélevée (EPM)

I.7.4.2.1. Principe du test

Le test du labyrinthe en croix surélevée (Elevated Plus Maze, EPM) est un modèle comportemental largement validé et utilisé en neurosciences pour l'évaluation de l'anxiété chez les rongeurs. Ce paradigme repose sur un conflit d'approche-évitement entre la motivation exploratoire naturelle de l'animal et son aversion innée pour les espaces ouverts, illuminés et surélevés. L'exploration accrue des bras ouverts est interprétée comme une réduction de l'anxiété (effet anxiolytique), tandis qu'une préférence marquée pour les bras fermés reflète un comportement de type anxieux. Les études considèrent l'EPM comme un outil standardisé indispensable pour l'évaluation des états anxieux induits expérimentalement ainsi que pour le criblage de substances pharmacologiques (**Walf & Frye, 2007 ; Komada et al., 2008**).

I.7.4.2.2. Dispositif expérimental

Le dispositif de l'EPM consiste en un labyrinthe en forme de croix, surélevé à une hauteur standard d'environ 50 cm du sol. Il comporte quatre bras de dimensions identiques disposés perpendiculairement : deux bras ouverts (dépourvus de parois latérales) et deux bras fermés (entourés de parois protectrices élevées). Une plateforme centrale carrée permet l'interconnexion et l'accès libre aux quatre bras. La structure géométrique du dispositif est spécifiquement conçue pour exploiter la thigmotaxie des rongeurs, c'est-à-dire leur tendance naturelle à privilégier les espaces confinés et protégés face à une situation de risque potentiel (**Walf & Frye, 2007 ; Komada et al., 2008**).



I.7.4.2.3. Procédure expérimentale

Au début de la session, l'animal est placé individuellement au centre du labyrinthe, face à l'un des bras ouverts, et est laissé libre d'explorer spontanément le dispositif pendant une durée standardisée de 5 minutes. Le comportement est enregistré en continu à l'aide d'un système de captation vidéo pour une analyse ultérieure. Les principaux paramètres comportementaux quantifiés sont le temps passé dans les bras ouverts, le temps passé dans les bras fermés, ainsi que le nombre d'entrées validées (les quatre pattes à l'intérieur) dans chaque type de bras (**Walf & Frye, 2007 ; Komada *et al.*, 2008**).

I.7.5. Standardisation et contrôle expérimental

Afin de garantir la stricte reproductibilité des résultats et d'éviter les biais inter-essais, le dispositif est rigoureusement nettoyé entre chaque animal à l'aide d'une solution d'éthanol à 70 % (ou d'eau savonneuse) afin d'éliminer les indices olfactifs (urine, fèces, phéromones) laissés par le sujet précédent. Les conditions environnementales de la salle d'expérimentation, notamment l'intensité lumineuse (lux), le niveau sonore et la température ambiante, sont maintenues constantes. Après le test, les animaux sont immédiatement séchés si nécessaire et replacés dans leurs cages d'hébergement (**Komada *et al.*, 2008 ; Walf et Frye, 2007**).

I.7.6 Procédure de sacrifice des animaux et de prélèvement sanguin

I.7.6.1. Sacrifice des animaux et prélèvement sanguin

À la fin de l'expérimentation et après une période de jeûne de 24 heures, les rats ont été anesthésiés par inhalation de chloroforme afin de minimiser le stress et les réactions physiologiques susceptibles d'influencer les paramètres biologiques étudiés. Les prélèvements sanguins ont été réalisés à huit heures du matin afin de respecter le rythme circadien de la sécrétion hormonale, notamment celui du cortisol. Le sacrifice a ensuite été réalisé par saignée contrôlée à l'aide d'une lame de bistouri stérile, dans des conditions expérimentales adéquates et conformément aux règles de biosécurité appliquées au laboratoire. Toutes les manipulations ont été effectuées dans le respect des recommandations relatives à l'expérimentation animale, avec le port de gants, de blouses de laboratoire ainsi que la désinfection systématique du matériel et de la paillasse après chaque manipulation.

Immédiatement après le sacrifice, le sang a été recueilli directement dans des tubes stériles contenant différents anticoagulants afin d'éviter toute coagulation.

Les échantillons sanguins ont été répartis comme suit:

Des tubes EDTA : destinés aux analyses hématologiques et biochimiques.

Des tubes héparinés : utilisés pour les analyses hormonales, notamment le dosage du cortisol plasmatique.

Tous les tubes ont été correctement étiquetés et identifiés selon chaque rat et chaque lot expérimental. Après le prélèvement, les tubes ont été immédiatement homogénéisés par retournement doux afin de prévenir toute coagulation. Les tubes héparinés ont ensuite été centrifugés afin de récupérer une quantité suffisante de plasma nécessaire à la réalisation des analyses hormonales.

Après centrifugation, les échantillons ont été conservés dans une glacière contenant des poches de glace afin de maintenir une température adéquate (4°C) durant leur transport vers le laboratoire, où ils ont été stockés et analysés dans des conditions appropriées.

I.7.7. Analyses hématologiques et hormonale

Après le prélèvement des échantillons sanguins, nous avons réalisé des analyses hématologiques et hormonales, comprenant la numération de la formule sanguine (NFS) ainsi que le dosage du cortisol. Le sang collecté dans 24 tubes EDTA a servi à l'analyse de la NFS, effectuée au niveau de l'Établissement Public de Santé de Proximité (EPSP) d'El Oued, polyclinique de Kouinine (El Oued), à l'aide de l'automate d'hématologie Diatron Abacus 380. **(Bouhamed *et al.*, 2024)**

Par ailleurs, les échantillons recueillis dans 6 tubes héparinés ont été destinés au dosage du cortisol. Le prélèvement a été effectué à huit heures du matin, afin de limiter les variations circadiennes de cette hormone et de garantir la fiabilité des résultats. Ces analyses ont été réalisées au niveau du laboratoire d'analyses médicales Ferdia (El Oued).

I.7.8. Analyse statistique

Les données obtenues ont été soumises à une analyse statistique basée sur la comparaison des moyennes. Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type. Le traitement statistique ainsi que la réalisation des histogrammes ont été effectués à l'aide du logiciel Microsoft Excel 2010.

Rats mâles19



Après l'adaptation

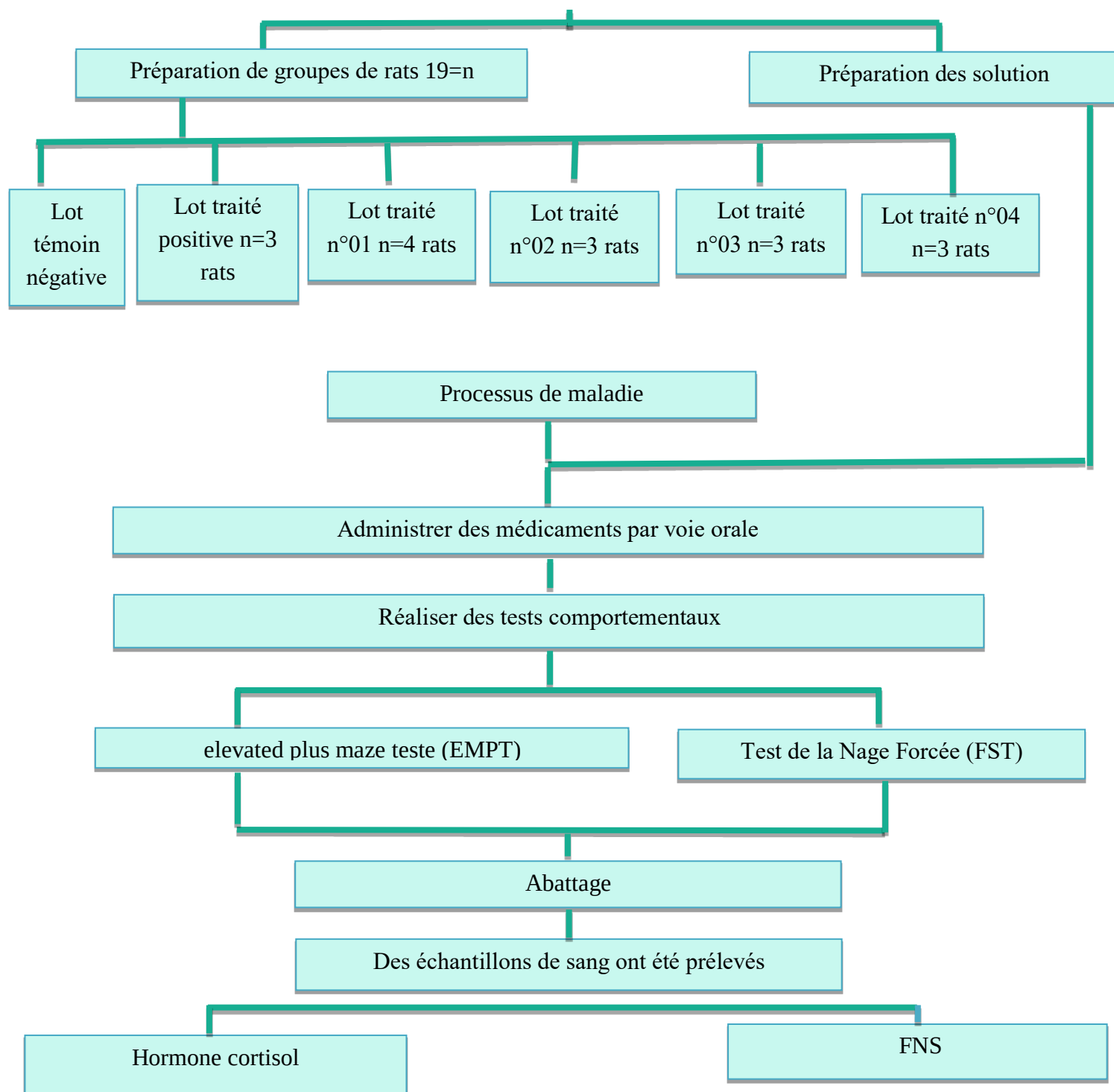


Figure 11 : Représente un schéma du protocole expérimental in vivo

I.8. Formulation et préparation des gummies fonctionnelles à base de *Withanai somnifera* et de kéfir

Pour préparer nos gummies, nous avons réuni 100 mL de jus d'orange, 7 g de gélatine végétale, 3 g de pectine, 5 g de poudre de dattes Degla Beida, 1 g d'amidon, 2 g d'extrait



d'*Ashwagandha*, 10 mL de kéfir, 3 g d'arôme de vanille, ainsi qu'un 0.5 g conservateur alimentaire. La poudre de dattes Degla Beida, issue de la région d'El Oued, nous a servi à la fois d'édulcorant naturel et de colorant, donnant à nos gummies leur teinte ambrée caractéristique.

Pour mener à bien notre préparation, nous avons utilisé une balance de précision, un thermomètre, une casserole, une spatule en bois, des moules en silicone et un réfrigérateur.

Nous avons commencé par chauffer le jus d'orange à une température comprise entre 70 et 80 °C, ce qui nous a permis d'homogénéiser les ingrédients tout en préservant les propriétés organoleptiques du jus. Nous avons ensuite incorporé la poudre de dattes Degla Beida sous agitation continue, puis nous avons ajouté l'amidon, la gélatine végétale et la pectine, jusqu'à former une matrice gélifiée homogène. Après avoir ajouté le conservateur alimentaire, nous avons incorporé l'extrait d'*Ashwagandha* afin d'assurer une distribution uniforme des composés bioactifs

Une fois le mélange refroidi en dessous de 40 °C, nous avons introduit le kéfir afin de préserver l'activité biologique des micro-organismes bénéfiques. Nous avons enfin coulé le mélange final dans des moules en silicone, que nous avons placés au réfrigérateur jusqu'à obtention d'une texture stable et cohésive.

Nous avons réalisé deux essais préliminaires qui se sont révélés non concluants, en raison d'une proportion insuffisante de gélatine et d'une teneur excessive en agents acidifiants (jus de citron, acide citrique), entraînant une faible stabilité du réseau gélifié et une fonte rapide de nos gummies.

L'absence de pectine et d'amidon avait également contribué à la diminution de la fermeté et de la stabilité du produit. Nous avons donc optimisé notre formulation en ajustant les proportions et en incorporant de la pectine et de l'amidon, ce qui nous a permis d'obtenir des gummies présentant une texture améliorée et une stabilité accrue.

Enfin, nous avons conditionné nos produits finis dans des récipients alimentaires stérilisés et hermétiquement scellés, afin de garantir leur qualité, leur sécurité microbiologique et leur stabilité durant toute la période d'étude.



Figure 12: Procédure de fabrication des gummies à base de ashwagandha et de kéfir

I.9.Évaluation sensorielle des gummies

Afin d'évaluer l'acceptabilité de notre produit fini auprès des consommateurs, nous avons réalisé une analyse sensorielle au moyen d'une fiche d'évaluation hédonique. Cette enquête a été menée auprès d'un panel de 50 dégustateurs, composé de 60 % de femmes et de 40 % d'hommes, répartis sur quatre tranches d'âge (18–25, 26–35, 36–50 et plus de 50 ans) afin de garantir la diversité des appréciations. Nous avons soumis à l'évaluation sept critères sensoriels l'apparence générale, la couleur, l'odeur, le goût, la texture, l'arrière-goût et l'acceptabilité globale notés selon une échelle hédonique à 9 points (1 = je n'aime pas du tout ; 9 = j'aime énormément). Nous avons également interrogé les participants sur leur intention d'achat du produit. Les données recueillies ont ensuite fait l'objet d'une analyse statistique descriptive et inférentielle, réalisée à l'aide du logiciel SPSS (ANOVA, test t, test du khi-deux et coefficient alpha de Cronbach).

CHAPITRE II

Résultat et discusiun

II.1. Analyse chimique des métabolites secondaires de l'ashwagandha

L'analyse chimique des métabolites secondaires de *Withana somnifera* L a permis d'identifier plusieurs composés bioactifs. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 04.

Tableau 04 : Résultats de l'analyse chimique des métabolites secondaires de l'ashwagandha.

Métabolites secondaires	Réactifs	Observatoin	Résuitats
Polyphénols	Fec13	Apparence bleu fonce	+++
Flavonoïdes	NaoH	Apparence jaune	+++
Terpénoïdes	H2SO4	Apparence brun rougeâtre	+++
Alcaloïdes	Wagner	Précipité drun	++
Tanins	Fec13	Apparence Vert foncé	++
Saponosides	--	Apparence de mousse	++
Glucosides	Fehling	Précipité rouge	++

Le signe plus (+) indique un résultat de test positif

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques présentés dans (Tableau 04) ont révélé la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de terpènes, d'alcaloïdes, de saponines, de tanins et de glycosides dans un extrait de la plante *Withanai somnifera* L.

Des études phytochimiques antérieures menées par **(Singh et al.,2011)** ont mis en évidence la présence d'alcaloïdes, de saponines, de flavonoïdes, de tanins, de composés phénoliques et de terpènes. Des résultats similaires ont été observés dans notre expérience **(Singh et al.,2011)**. Les études phytochimiques réalisées par Mirijalili et d'autres chercheurs indiquent également les mêmes résultats que les nôtres, avec la présence de phénols, de flavonoïdes, de tanins, de saponines et de glycosides terpéniques **(Mirjalili et al .,2009)**.

La présence de métabolites secondaires dans la plante étudiée confirme ces résultats. De ce fait, son utilisation répandue en médecine traditionnelle et moderne à travers le monde est

justifiée. Les tanins, les flavonoïdes, les saponines et les terpènes possèdent de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé, notamment des effets antimicrobiens, antioxydants, antitumoraux et anxiolytiques (Mirjalili et al., 2021).

II.2. Rendement d'extraction

L'extrait brut de racines d'ashwagandha (*Withanai somnifera* L.) a été pesé après évaporation, puis séché afin de déterminer sa masse sèche. Le rendement en méthanol de l'extrait est exprimé en pourcentage de la masse du résidu sec par rapport à la poudre sèche initiale. Les résultats sont résumés dans le tableau 5 :

Tableau 05 : Rendement de l'extraction méthanolique de l'ashwagandha (*Withanai somnifera* L.).

Plante	<i>Withanai somnifera</i> L
Extrait	Withanolides
Masse de poudre	20
Masse d'extrait pur	1.2
Rendement de la macération	6%

D'après les résultats présentés dans le tableau 8, le rendement de l'extrait d'ashwagandha (*Withanai somnifera* L.) a été estimé à 6 %, soit un rendement supérieur aux 4,7 % rapportés par (Shinde et al., 2023). Cependant, (Jain et al., 2010) ont obtenu un rendement nettement plus élevé de 11,88 % avec l'extrait méthanolique de *Withanai somnifera* L. De même, (Mishra et al., 2020) ont montré un rendement de 5,8 % avec l'extrait méthanolique d'ashwagandha, inférieur au nôtre (Mishra et al., 2020).

La méthode d'extraction a un impact significatif, les techniques modernes (telles que les ultrasons et les micro-ondes) donnant de meilleurs résultats que les méthodes traditionnelles. Le type de solvant (eau, éthanol ou un mélange) influe également sur la quantité et la qualité des composés extraits. La température et la durée d'extraction peuvent augmenter le rendement, mais des augmentations excessives peuvent entraîner la dégradation de certains composés sensibles. La partie de la plante utilisée (racine, feuilles, etc.) a aussi une incidence sur la quantité de composés extraits. (Gaurav et al., 2023; Singirala et al., 2025).

L'étude montre que le *Withana somnifera* L est sensible à la présence d'endophytes, le rendement et la production de ces composés variant selon le type d'endophytes et leur

localisation au sein de la plante. Elle influence également l'expression des gènes des voies de biosynthèse des éthanoloïdes (MVA et MEP), entraînant une augmentation ou une diminution du rendement final en composés actifs (Shiv *et al.*, 2018).

II.3. Analyse quantitative

II.3.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur totale en polyphénols de l'extrait Withanolides de *Withana somnifera* L a été estimée par spectrophotométrie selon la méthode au cyclohexane de Folin-Ciocalteu. Cette méthode répond aux critères de fiabilité, de reproductibilité, de disponibilité du réactif de Folin-Ciocalteu et est bien standardisée (Alam *et al.*, 2011).

Les résultats obtenus sont exprimés en microgrammes d'équivalent acide gallique par milligramme d'extrait sec (ug EAG/mg Ex) à 765 nm ; cette teneur est calculée à l'aide de l'équation de régression linéaire La courbe de titrage obtenue avec l'acide gallique ($y = 0,0059x + 0,0261$ et $R^2 = 0,9923$) est présentée sur la (figure13).

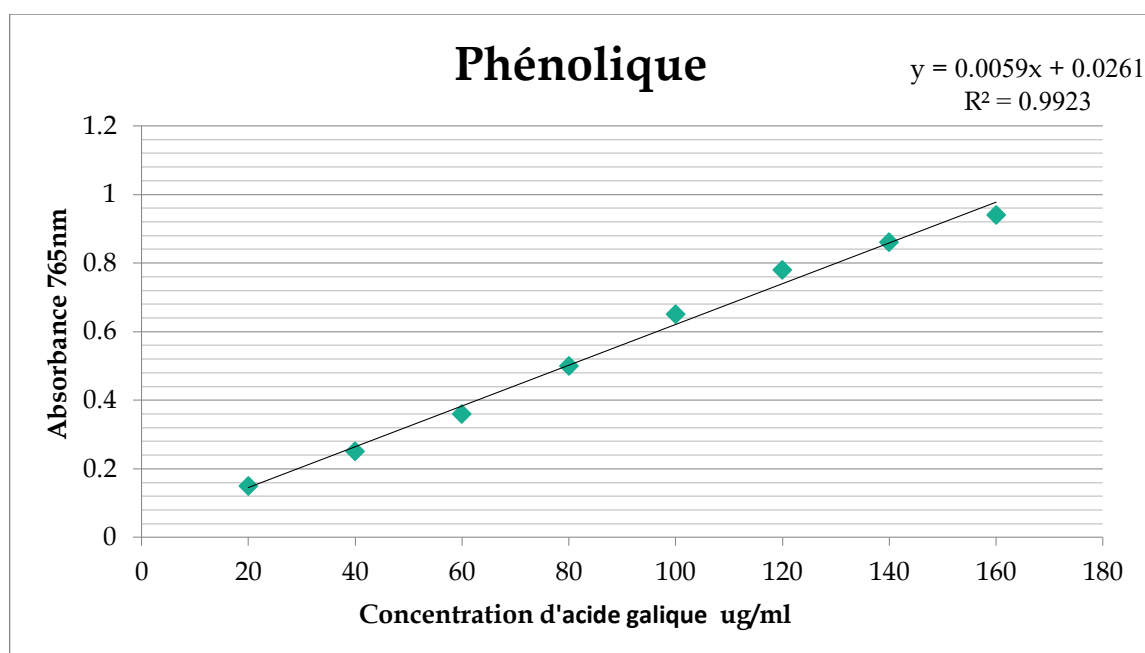


Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage de polyphénols totaux.

Les résultats concernant la teneur totale en polyphénols de l'extrait de racine d'ashwagandha (*Withana somnifera* L.) sont exprimés en moyenne de trois échantillons, l'écart type étant indiqué dans le tableau suivant (tableau 06).

Tableau 06 : Teneur totale en polyphénols de l'extrait de racine d'ashwagandha (*Withanai somnifera L.*)

Extrait	Teneur en polyphénol totaux(ug EAG/mg Ex)
<i>Withanai somnifera L</i>	0.163±0.011

Après que les résultats d'absorption aient été comparés à la courbe d'étalonnage, la teneur totale en composés phénoliques dans notre échantillon a été estimée à 0,163±0,011 microgrammes équivalent d'acide gallique/mg d'extrait.

Une étude scientifique menée par (**Alam et al., 2011**) a montré que la teneur totale en composés phénoliques était de 17,80 ± 5,80 mg / g de matière sèche, une valeur bien supérieure à nos résultats. La quantité de phénols a été mesurée dans les feuilles, les fruits et les racines; les valeurs les plus élevées ont été enregistrées dans les feuilles 32,58 ± 3,16 mg / g, suivies des fruits, tandis que les racines présentaient la plus faible concentration de composés phénoliques (**Alam et al., 2011**), et selon l'étude axée sur Porter *et al* déterminer la teneur en composés phénoliques en utilisant deux méthodes d'extraction: l'extraction aqueuse et l'extraction au méthanol. Les résultats ont montré que l'extraction aqueuse donnait des concentrations beaucoup plus élevées que l'extraction au méthanol. L'étude a inclus la plante entière d'ashwagandha (*Withanai somnifera L*), y compris les feuilles, les racines et les fruits. La teneur en composés phénoliques dans les radicaux (0,90 ± 0,12 mg / g) était supérieure à la teneur obtenue dans notre étude (**port et al., 2023**). L'étude menée par Thapa et ses collègues a également indiqué une valeur très élevée de la quantité totale de phénol contenue dans les racines, où des résultats de 96,4 ± 0,37 mg / g ont été enregistrés, ce qui est une valeur significative par rapport à (**Liliana et al., 2016**).

Dai *et al* expliquent que la méthode d'extraction est le principal facteur influençant la quantité de composés phénoliques extraits des plantes. La teneur en phénol varie en fonction du type de solvant utilisé, tel que l'eau, le méthanol ou l'éthanol, en raison des différents degrés de polarité (**Dai et al., 2010**), (**Ignat et al., 2011**) ont montré que les composés phénoliques ne sont pas répartis uniformément dans toute la plante, mais différent selon ses parties, telles que les feuilles, les racines, les fruits. Les feuilles sont souvent plus riches en phénols en raison de leur exposition à la lumière et des facteurs environnementaux qui stimulent leur production, tandis que les racines en sont relativement moins riches (**Ignat et al., 2011**) Dans son étude, Baenasa également expliqué les conditions environnementales qui affectent la quantité de

phénols dans les plantes; la sécheresse, la chaleur et la salinité augmentent la production de phénol, tandis que la lumière, le rayonnement ultraviolet, le sol et le climat provoquent des différences de teneur en phénol entre les plantes (Baenasa *et al.* ,2014).

II.3.2 Dosage des flavonoïdes

Les teneur flavonoïdes ont été estimés à l'aide de la méthode colorimétrique du chlorure d'aluminium (ALCL₃), et selon l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée avec la quercétine à (430nm), la teneur en flavonoïdes dans l'extrait a été déterminée et exprimée en unité ug d'équivalent quercétine par mg d'extrait sec (µg EQu/mg Ex). A partir de la courbe d'étalonnage ($y = 0,0728x + 0,0769$ et $R^2 = 0,9887$), les résultats sont présentés dans le (tableau 07) et la courbe d'étalonnage est présentée dans la (figure 14).

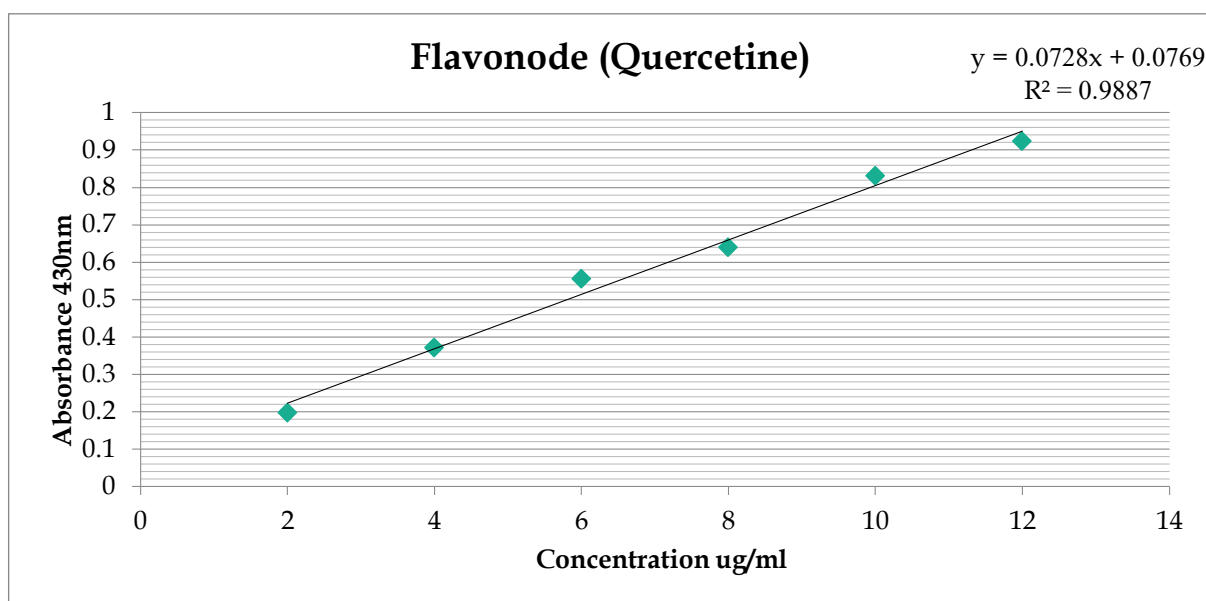


Figure 14 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

Le résultat de la teneur totale en flavonoïdes dans l'extrait étudié apparaît dans le tableau suivant:

Tableau 07: Teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait de *Withanai somnifera L*

Extrait	Teneur en flavonides totaux (ug EQu/mg Ex)
<i>Withanai somnifera L</i>	0.197±0.004

D'après les résultats obtenus, la teneur en flavonoïdes dans les racines de (*Withanai somnifera L*). a été estimée à 0.197±0.004 (ug EQu/mg EX) .

L'étude réalisée par (Alam *et al.*, 2011) avait pour objectif d'évaluer la composition biochimique de *Withanai somnifera* L en analysant différentes parties de la plante, notamment les racines, les feuilles et les fruits. Les résultats ont montré que les feuilles présentaient la teneur totale en flavonoïdes la plus élevée ($31,58 \pm 5,07$ mg EQ/g de matière sèche), suivies des racines ($15,49 \pm 1,02$ mg EQ/g), tandis que les fruits affichaient des valeurs plus faibles. Ces teneurs sont supérieures à celles obtenues dans notre étude (Alam *et al.*, 2011). Selon, l'étude de (Li *et al.*, 2024) a une variation de la teneur totale en flavonoïdes entre les cinq variétés d'ashwagandha étudiées. Les valeurs variaient de $1,98 \pm 0,01$ à $80,735 \pm 4,33$ mg EQ/g de matière sèche. La teneur la plus élevée a été observée dans les racines de la variété Jawahar-20, tandis que la plus faible a été enregistrée dans les tiges de la variété Nimitli. Ces résultats demeurent également supérieurs à ceux obtenus dans notre étude. Par ailleurs, une autre étude a rapporté que la teneur totale en flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles d'ashwagandha était de $11,5 \pm 0,0$ mg/g de matière sèche, une valeur également supérieure à celle observée dans notre travail (Li *et al.*, 2024).

Lee *et al* a également montré que la teneur totale en flavonoïdes des extraits racinaires variait entre $14,78 \pm 0,33$ et $32,68 \pm 0,46$ mg EC/g de matière sèche. La valeur la plus élevée a été enregistrée dans les racines cultivées in vitro pendant 30 jours (1MIR), tandis que la plus faible a été observée dans les racines cultivées au champ pendant deux mois (2MFR). Les résultats ont également indiqué que les racines cultivées in vitro contenaient davantage de flavonoïdes que celles cultivées au champ. En comparaison avec notre étude, toutes ces valeurs sont nettement supérieures à celles que nous avons obtenues (Lee *et al.*, 2015).

La teneur plus élevée en flavonoïdes totaux par rapport aux phénols totaux peut s'expliquer par les différences de sensibilité et de spécificité des méthodes analytiques utilisées. En effet, selon la méthode de Folin–Ciocalteu peut conduire à une sous-estimation de certains composés phénoliques, tandis que la méthode au chlorure d'aluminium présente une réponse plus élevée envers les flavonoïdes (Mohammed I *et al.*, 2011 ; Illokl-assanga *et al.*, 2015).

II.3.3 Dosage des tanins condensés

La teneur en tanins condensés a été déterminée par fixation du groupe vanilline aldéhyde. Les résultats sont exprimés en μg d'équivalent catéchine par mg d'extrait ($\mu\text{g ECT/mg Ex}$) en utilisant la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée pour la catéchine, comme le montre la (figure 15) selon l'équation du type: ($y = 0.8948x + 0.2872$ et $R^2 = 0,9909$).

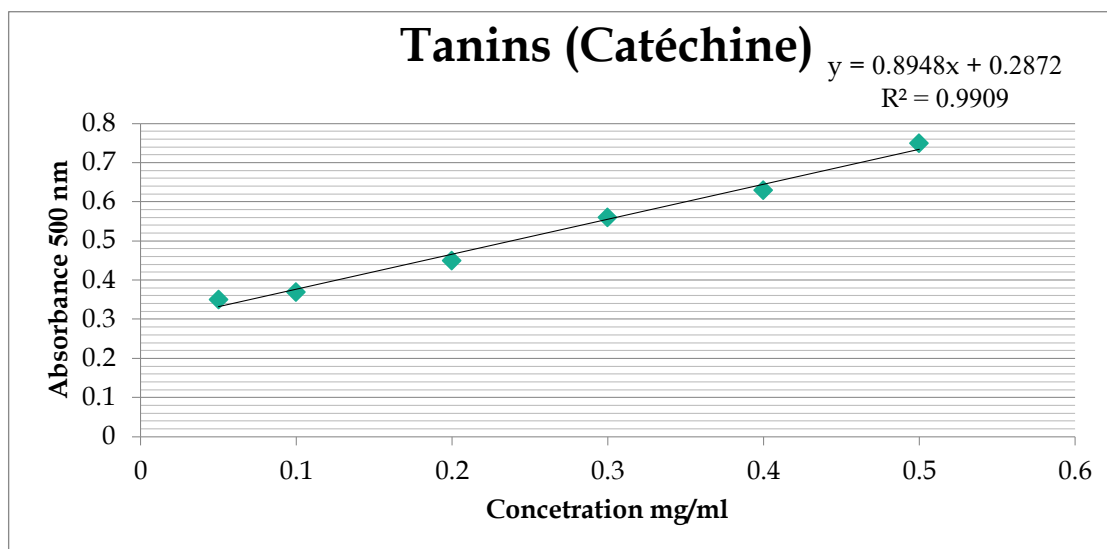


Figure 15: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage de tanins condensés

Le résultat de la teneur en tanins condensés dans l'extrait de *Withana somnifera* L est présenté dans le (tableau 8) ci-dessous.

Tableau 08: Teneur en tanins condensés dans l'extrait d'*Withanai somnifera* L

Extrait	Teneur en tanins condensés (mg ECT/ml Ex)
<i>Withani somnifera</i> L	0.353±0.011

On note que la teneur en tanins de *Withana somnifera* L dans notre échantillon est estimée à 0.353 mg ECT/ml Ex.

Par rapport à une étude réalisée par(**Gulati et al. ,2017**) sur la présence de tanins à différentes concentrations dans la plante *Withanai somnifera* L. (ashwagandha), avec des valeurs allant de 0.51 ± 0.69 mg EC/ g à 0.61 ± 36.09 mg EC/g , ces valeurs sont nettement plus élevées que les résultats obtenus dans notre étude (**Gulati et al.,2017**). Dans une étude menée par (**Bhalodia et al. , (2013)**), portant sur 7 génotypes de racines génétiquement différents, notamment HWS-08-14 et HWS-08-18, les valeurs variaient entre 0.30mg/g et 0.31mg/g, ce qui est inférieur à nos résultats (**Bhalodia et al.,2013**). Cependant, (**Sharma et al., (2021)**) ont déterminé la teneur en tanins de *Withanai somnifera* L. selon les parties de la plante, avec une valeur de 8.14% dans les feuilles et de 1.55% dans les racines, des valeurs beaucoup plus élevées que celles obtenues dans notre étude.(**Sharma et al .,2021**).

L'importante variation des valeurs des tanins condensés entre les différentes études scientifiques peut s'expliquer par les différences de leur teneur. En effet, la présence des tanins condensés dans les plantes dépend de plusieurs facteurs essentiels. Certains sont d'ordre

environnemental, tels que la sécheresse, la concentration en dioxyde de carbone et la fertilité du sol, tandis que d'autres sont liés aux caractéristiques de la plante, notamment son espèce, la partie végétale utilisée et son stade de maturité (Bennick,2002;Asadi *et al.*,2019).

II.4 Activité biologiques

II.4.1 Activité antioxydant (test DPPH)

L'efficacité antioxydante de l'extrait alcoolique d'ashwagandha (*Withanai somnifera* L.) contre le radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie. Cette évaluation repose sur l'observation de la réduction de ce radical, associée à un changement de couleur du violet au jaune à 587 nm. Les résultats ont été comparés et validés à l'aide d'un témoin positif contenant de l'acide ascorbique (Figure 16). Les valeurs IC₅₀ de l'extrait de racine d'ashwagandha et de l'acide ascorbique sont présentées dans le Tableau 9

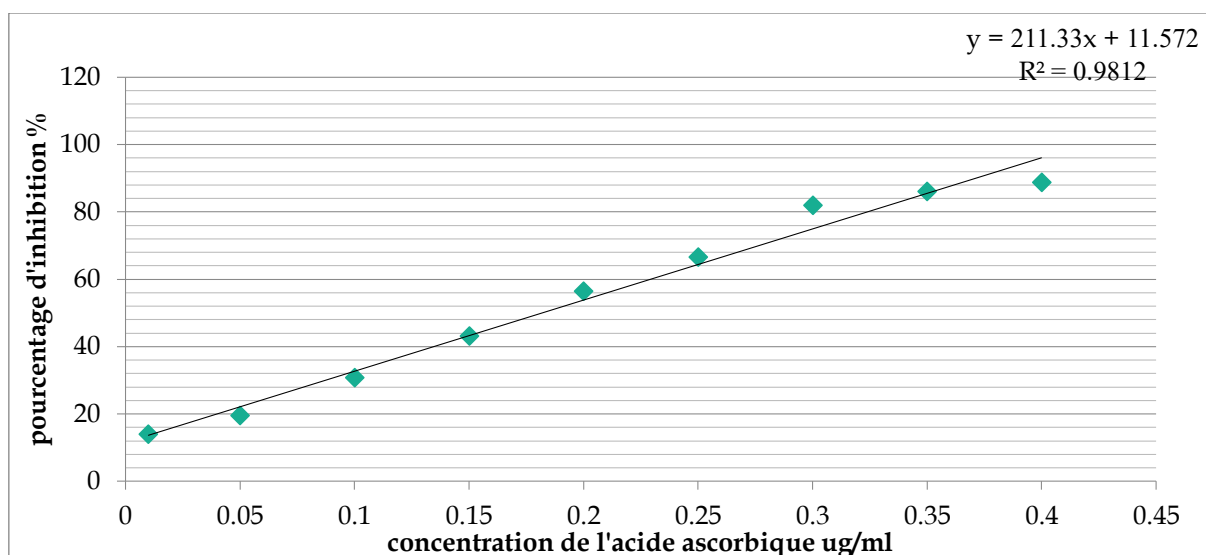


Figure 16: Gamme d'étalonnage de l'acide ascorbique

Tableau 09: Activité antioxydante de l'extrait Withanolides d'*Withanai somnifera* L et de l'acide ascorbique

Echantillon	IC ₅₀ (ug/ml)
<i>Withanai somnifera</i> L	0.134±0.013
Acide ascorbique	0.182±0.0015

Selon les résultats présentés dans le tableau 9, l'extrait des racines de *Withanai somnifera* L. a montré une activité antioxydante importante, avec une valeur d'IC₅₀ de 0,134 µg/mL ± 0,013. D'après ces résultats, l'activité antioxydante de l'extrait alcoolique d'ashwagandha est

supérieure à celle de l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique (vitamine C), dont la valeur d'IC₅₀ est de 0,182 µg/mL.

Selon l'étude réalisée par **(Mishra et al., 2021)**, l'extrait méthanolique de *Withanai somnifera* L. a montré une activité antioxydante à travers l'inhibition des radicaux libres DPPH, avec une valeur d'IC₅₀ de 11,56 µg/mL, tandis que l'IC₅₀ de l'acide ascorbique était de 15,68 µg/mL. Ces résultats indiquent que l'extrait méthanolique de *Withanai somnifera* possède une activité antioxydante plus élevée que celle de l'antioxydant de référence, l'acide ascorbique **(Mishra et al., 2021)**, Selon l'étude de **(Alam et al., 2012)**, la valeur de l'IC₅₀ de l'extrait méthanolique de *Withana somnifera* L était de 801,93 µg/mL. En comparaison, l'étude de Kim et al. (2024) a rapporté une valeur d'IC₅₀ de 59,16 µg/mL pour l'extrait méthanolique de ashwagandha **(Alam et al., 2012)**.

À travers la recherche bibliographique, de très grandes différences de points de vue ont été notées concernant la relation entre les composés polyphénoliques et l'activité antioxydante. Certaines études ont montré une forte corrélation entre les valeurs de IC₅₀ et la teneur en polyphénols **(Athamena et al., 2010)**, ce qui soutient nos résultats indiquant que notre plante possède une activité antioxydante élevée, supérieure à celle d'un antioxydant de référence, L'activité antioxydante élevée de l'extrait s'explique par sa teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes ayant une forte capacité à donner des électrons ou des atomes d'hydrogène aux radicaux libres, ce qui conduit à leur stabilisation et à la réduction de leur effet oxydatif. De plus, le nombre et la position des groupes hydroxyles (-OH) dans la structure chimique de ces composés jouent un rôle important dans le renforcement de leur efficacité antioxydante, ce qui contribue à augmenter leur capacité à piéger les radicaux libres **(Heim et al., 2002)**. La structure chimique a une influence importante sur l'activité antioxydante, et celle-ci ne dépend pas uniquement de la dose **(Rice Evans et al., 1996 ; Pietta., 2000)**

II.4.2 Activité antioxydant (test FRAP)

L'extrait withanolides de *Withana somnifera* L, a été testé pour ses activités antioxydantes à l'aide du test FRAP car ce dernier travaille avec des ions métalliques pour s'oxyder.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant de l'acide ascorbique (figure 17). Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de l'acide ascorbique par gramme d'extrait (µg/mL).

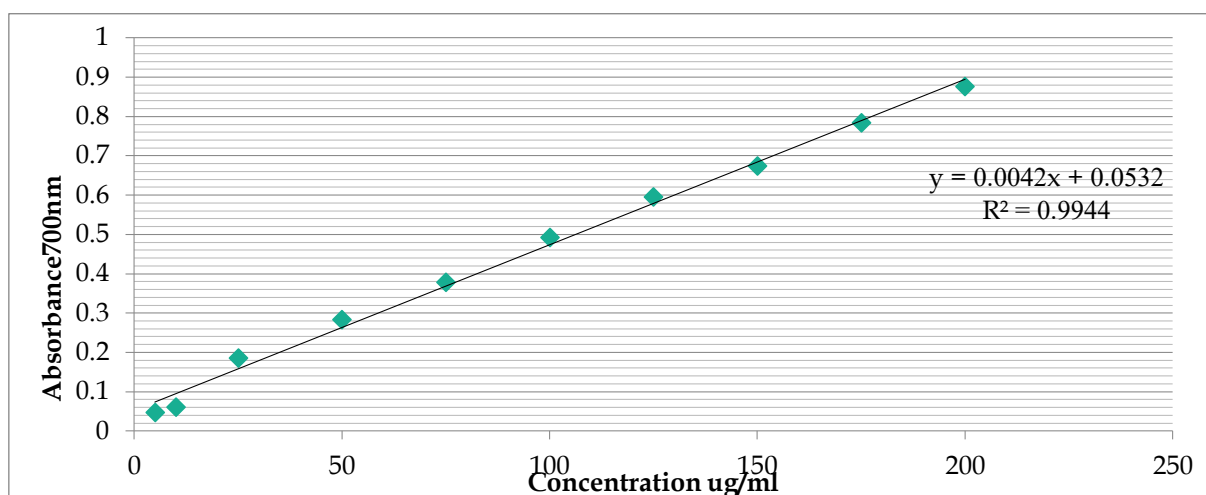


Figure 17: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test FRAP

Tableau 10: Résultats de l'activité antioxydante de l'extrait withanolides d'*Withana somnifera* L et de l'acide ascorbique.

Echantillon	EC50(ug/ml)
<i>Withanai somnifera</i>	86.58±0.62
Acide ascorbique	90.53±0.72

Les résultats du test de FRAP mentionnés sur le (tableau 10) indiquent que l'extrait de *Withana somnifera* L. possède un effet antioxydant élevé il est de 86.58±0.62 ug/ml, mais et ce résultat est inférieur aux résultats de l'acide ascorbique, qui s'élèvent à 90.53 ±0.72 ug/ml.

Une étude réalisée par (Saleem.,2023) sur l'extrait méthanolique de la plante *Withanai somnifera* L a montré qu'elle possède une activité antioxydante avec une valeur EC50 de 34.34 ± 3.4, ce qui est beaucoup plus faible que la valeur obtenue dans notre étude (Saleem et al.,2023). En revanche, une autre étude menée par (Saggiorati et al., 2023) a rapporté une valeur EC50 de l'activité antioxydante égale à 735.4 ± 2235 (Saggiorati et al.,2023). De même, l'étude réalisée par (Khan. ,2012) sur l'extrait méthanolique de *Withanai somnifera* L a montré une activité antioxydante avec une dans notre étude. Cette étude montre que l'extrait méthanolique de la plante *Withanai somnifera* L. possède une activité notable de piégeage des radicaux libres, selon les résultats de différents tests. Une activité antioxydante significative a été observée dans les tests DPPH et FRAP de l'extrait méthanolique de la plante récoltée dans la région de Biskra.

Les résultats de la revue de la littérature ont montré l'existence d'une corrélation positive entre la structure des polyphénols et l'activité antioxydante. De manière générale, les

polyphénols contenant un grand nombre de groupes hydroxyles présentent une activité antioxydante plus élevée (**Heim et al.,2002**) . raison de leur capacité à donner un grand nombre d'atomes pour stabiliser et neutraliser les radicaux libres (**Torres de pinedo et al.,2007**), Sur la base des données précédentes, il est probable que la forte activité antioxydante des extraits polaires soit due à la présence de composés possédant des groupes hydroxyles libres. Dans ce contexte, les flavonoïdes présentent une structure idéale pour éliminer les radicaux libres, grâce à la présence de plusieurs groupes hydroxyles agissant comme donneurs d'hydrogène (**Usmani et al.,2013**).

II.5. Paramètres physiologique *In vivo*

II.5.1. Evaluation du poids corporel durant le traitement

Au début de l'expérience, le poids corporel moyenne des souris traitées et des souris témoins et stressées ne présentait aucune différence, comme le montre dans le (tableau 11) ci-dessous.

Ce n'est qu'au deuxième jour de l'expérience qu'une diminution de poids corporel moyenne des souris stressées (malade) et des souris traitées par rapport au témoin comme représenté sur la figure 18

Tableau 11 : Variation du poids corporels des rats témoins et traités et stressés entre le début et la fin de traitement

Paramètres	Rats témoins	Rats traités	Rats stressés
Poids corporel initial (g)	322,500 ± 33,071	319,333 ± 31,121	320,667 ± 21,385
Poids corporel final (g)	329,000 ± 33,635	306,667 ± 29,917	298,333 ± 20,232

La période de traitement a duré 30 jours complets, mais en traçant les courbes (figures 18 et 19), nous sommes limités à suivre uniquement les 10 premiers jours.

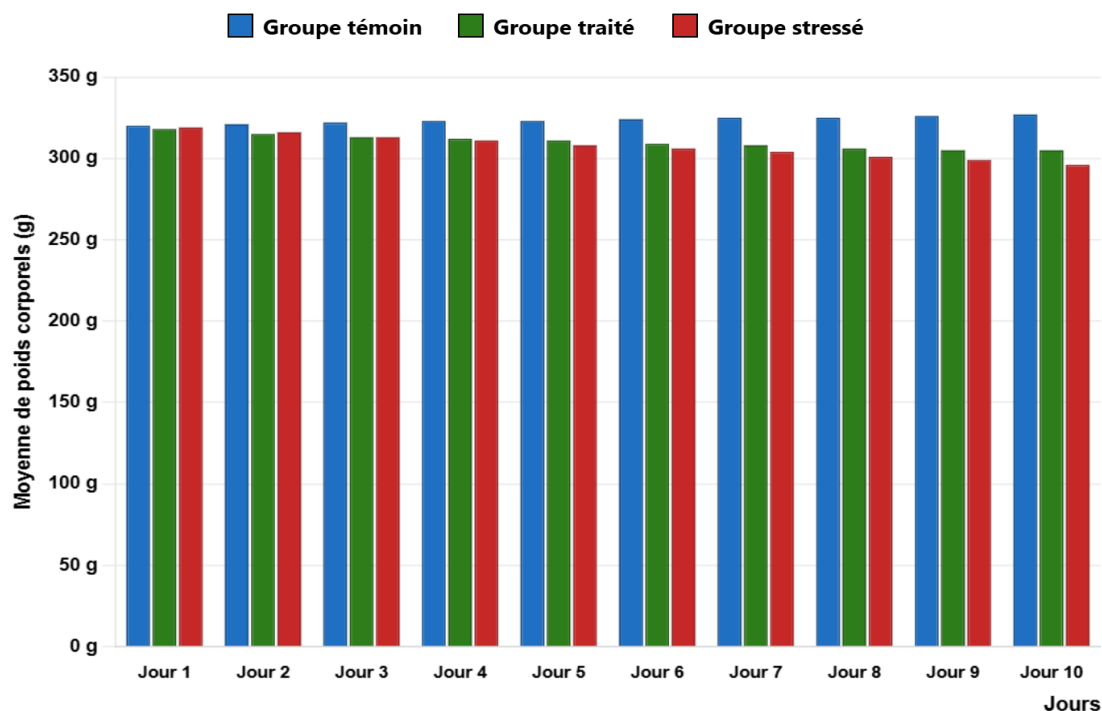


Figure 18 : Evolution du moyenne de poids corporels des rats témoins et traités et stressées pendant le traitement

II.5.2. Evolution de la consommation d'aliments au cours du traitement

Tout au long de l'expérience, la consommation alimentaire du groupe témoin est restée stable, tandis qu'une diminution a été observée dès le deuxième jour chez les groupes stressé et traité. À partir de la deuxième semaine, une reprise progressive de la consommation a été notée chez le groupe traité, alors que le groupe stressé a maintenu une consommation réduite jusqu'à la fin de la période expérimentale. Les résultats sont présentés dans le tableau 12 et la figure 16.

Tableau 12 : variation de la prise alimentaire des rats témoin et traités et stressées entre le début et la fin de traitement

Paramètres	Groupe témoin	Groupe traité	Groupe stressé
Consommation initiale (g)	96,0 ± 0,24	96,0 ± 0,14	96,0 ± 0,14
Consommation finale (g)	98,0 ± 0,24	76,5 ± 0,30	60,0 ± 0,29

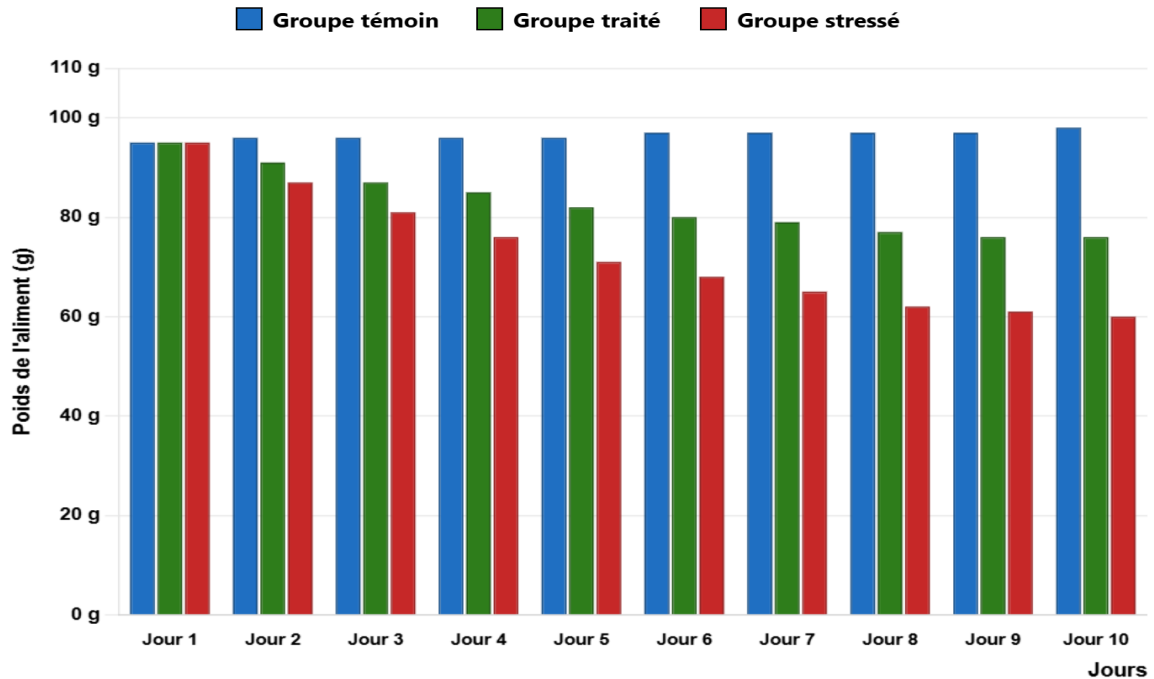


Figure 19 : Evolution de la prise alimentaire quotidienne des rats témoins et traités et stressés pendant le traitement

Nos résultats montrent une diminution du poids corporel et de la prise alimentaire dans le groupe stressé et le groupe traité par rapport au groupe témoin, et nous constatons après de la deuxième semaine, une augmentation dans le poids corporel et le consommation alimentaire, mais le groupe stressé a maintenu une consommation et poids réduite jusqu' à la fin de études

En comparaison avec d' autres études (**LiuH et al .,2024 ; Schweizer et al .,2009 ; Kim et al .,2013 ; Strekalova et al .,2004**) ils ont découvert que le stress et l' anxiété diminution le poids et cette étude est similaire à nos résultats . En plus d' une étude menée par (**Roux T et al .,2021 ; Francois M et al .,2022**) il a déclare que la bonne façon d' évaluer le stress chez le rat est d' étudier les paramètres physiologiques tels que le poids ces résultats sont similaire à nos résultats .

Nous expliquons l' diminution du poids corporel et de la consommation alimentaire chez les souris stressées par rapport aux souris témoins , en raison de L'exposition à une lumière constante induit des altérations des taux de mélatonine, de la prise alimentaire, de l'efficacité alimentaire, de l'adiposité viscérale et des rythmes circadiens chez les rats.(**Wideman & Murphy, 2009**)

Nous expliquons que la perte de poids initialement observée chez les rats traités au kéfir peut s'expliquer par les effets néfastes du stress chronique sur le métabolisme énergétique et le

comportement alimentaire. (Harris, R. B. S., et al. 2002) Cependant, l'amélioration progressive du poids corporel observée au cours de la période expérimentale peut s'expliquer par les propriétés bénéfiques du kéfir. En fait, il a été démontré que le kéfir est capable de soulager les comportements anxieux induits par le stress en modulant les niveaux de facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) et en abaissant les concentrations de corticostérone, la principale hormone impliquée dans la réponse au stress.

De plus, le kéfir renforce les défenses antioxydantes de l'organisme, réduisant ainsi le stress oxydatif associé à l'exposition aux facteurs de stress. Ces effets combinés contribuent à l'amélioration de l'état physiologique des animaux, (Rocha-Gomes A ,2018) favorisent la reprise progressive de l'appétit, augmentent la consommation alimentaire et, par conséquent, une prise de poids importante en fin de traitement. la discutés également l'amélioration progressive de poids dans le groupe traité avec *Withanai somnifera* L car il est connu pour ses propriétés qui agissent pour réduire le stress et améliorer la santé mentale et les comportements alimentaires .(Ketan P et al ,2025)

II.6. Etude comportementale *In vivo*

II.6.1. Test de nage forcée (FST)

La durée du test est 6 minutes mais les deux premières minutes ne sont pas comptées et sont prises en compte à l'exception des quatre dernières minutes, au cours desquelles la durée d'immobilité, d'escalade et de natation est calculée. Ce test est également effectué deux fois et le délai entre chaque test est de 7 jours.

Les différences dans les temps moyennes d'immobilisation, de natation et d'escalade sont indiquées dans tous les lots et pour les tests 1 et 2, et le temps est exprimé en secondes comme le montre la (figure 20).

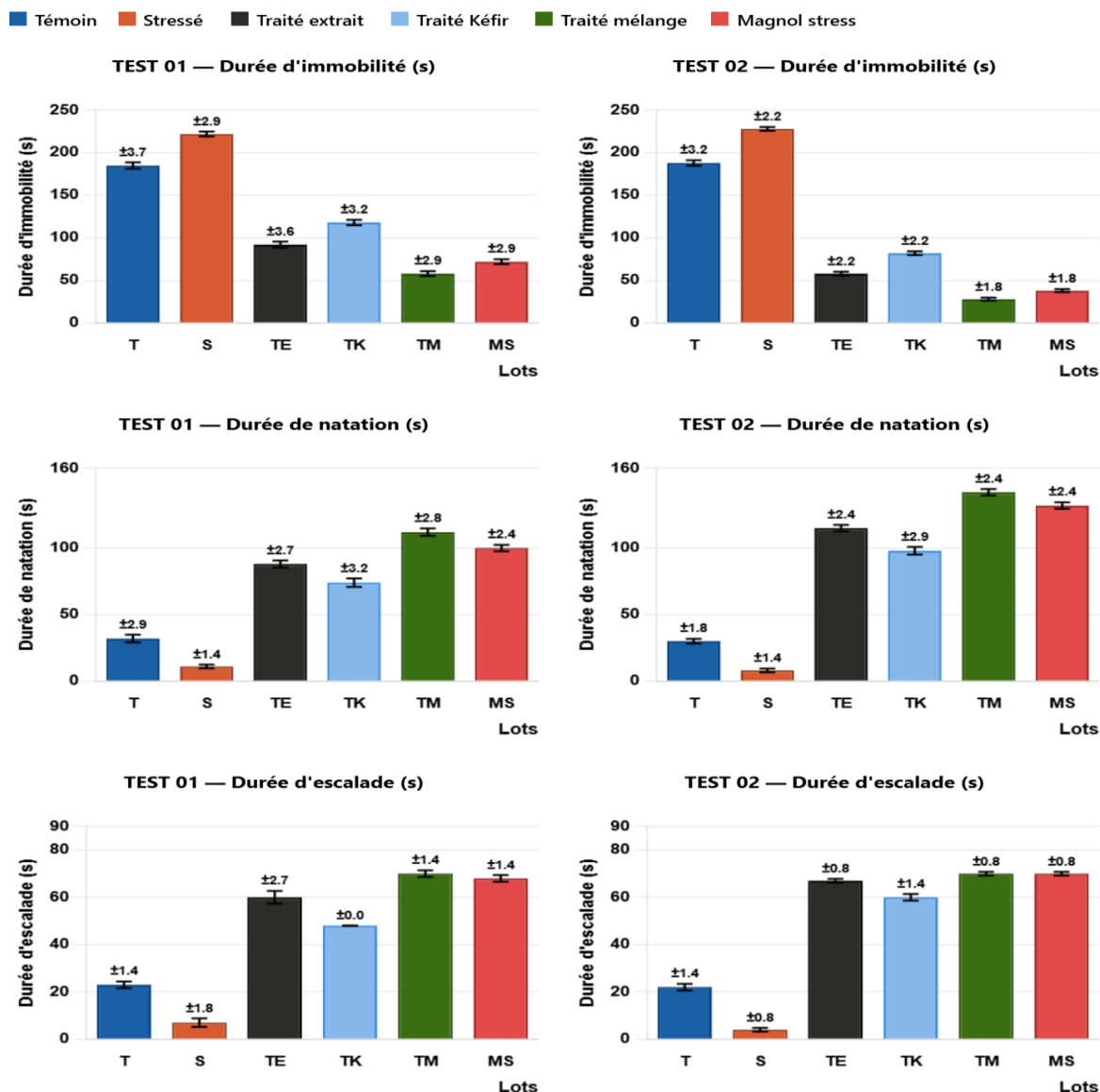


Figure 20 : Temps moyenne de natation et d'immobilité et d'escalade pour chaque lot et les deux tests

D'après les résultats montrés dans les histogrammes des deux tests (le premier et le deuxième), nous remarquons que le temps moyen d'immobilité était plus élevé dans le lot des rats stressés par rapport au lot des rats témoins et aux lots des rats traités, comme le temps moyen d'immobilité dans le premier test était de $222,0 \text{ s} \pm 2,9$ et dans le deuxième test de $228,0 \text{ s} \pm 2,2$. Nous remarquons également que le temps moyen de natation et d'escalade était plus élevé dans le groupe traité avec le mélange *Withanai somnifera* L+ kéfir par rapport aux autres groupes traités, le temps moyen d'escalade dans le premier test a atteint $70,0 \text{ s} \pm 1,4$ et dans le deuxième test $70,0 \text{ s} \pm 0,8$, quant au temps moyen de natation, il a atteint $112,0 \text{ s} \pm 2,8$ dans le premier test et $142,0 \text{ s} \pm 2,4$ dans le deuxième test. Ces résultats sont comparables à ceux

enregistrés dans le lot traité avec le médicament de référence Magnol stress, dont le temps moyen d'escalade a atteint $68,0 \pm 1,4$ et $70,0 \pm 0,8$ respectivement dans les deux tests, et le temps moyen de natation a atteint $100,0 \pm 2,4$ et $132,0 \pm 2,4$. Quant au lot des rats stressés et au lot des rats témoins, ils ont enregistré les valeurs les plus faibles de temps moyen de natation et d'escalade dans les deux tests. Ces résultats sont cohérents avec les travaux de **(Bhattacharya et Muruganandam 2003 et de Liang et al. 2015)**, qui ont démontré que le traitement par des adaptogènes et des probiotiques entraîne une diminution significative du temps d'immobilité et une augmentation significative des temps de natation et d'escalade chez les rongeurs soumis à un stress chronique.

Nous interprétons l'augmentation du temps moyen d'immobilité observée dans le groupe de rats stressés par le fait que **(Ferrier 2015)** a démontré que l'immobilité des rongeurs lorsqu'ils sont placés dans l'eau et leur abandon après une courte période traduisent un désespoir comportemental (*behavioral despair*), état caractéristique des modèles animaux d'anxiété et de dépression.

L'évaluation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) et de sa relation avec le comportement constitue l'une des approches les plus couramment utilisées pour mesurer les niveaux de stress chez les rongeurs **(Tapia-Osorio et al., 2013)**.

Plusieurs études expérimentales ont établi qu'en cas de stress chronique, l'axe HPA est fortement activé, entraînant une hypersécrétion de corticostérone qui modifie profondément le comportement moteur des rongeurs, notamment en augmentant la durée d'immobilité dans le test de nage forcée de Porsolt **(Segerstrom et Miller, 2004)**.

Nous précisons également que l'immobilité et l'abandon des rats dans ce test sont influencés par plusieurs facteurs dont la race de l'animal, les dimensions du récipient, la profondeur et la température de l'eau (variant de 22 à 35 °C), ainsi que l'éclairage de la salle expérimentale, autant de facteurs susceptibles d'induire un état d'anxiété et de désespoir comportemental chez l'animal **(Porsolt et al., 1978 ; Castagné et al., 2010)**.

Nous expliquons l'augmentation du temps moyen de natation et d'escalade et la diminution du temps moyen d'immobilité dans le groupe de rats traités avec l'extrait de *Withanai somnifera* L (50 mg/kg) par la richesse de cette plante en withanolides, composés bioactifs qui exercent une activité anxiolytique et antidépresseur par plusieurs mécanismes convergents.

D'une part, les withanolides inhibent la sécrétion de CRH au niveau hypothalamique et d'ACTH au niveau hypophysaire, réduisant ainsi la production de corticostérone par les glandes surrénales et atténuant l'hyperactivation de l'axe HPA induite par le stress **(Bhattacharya et**

Muruganandam, 2003). D'autre part, ces composés exercent une action GABAergique directe en se liant aux récepteurs GABA-A, produisant un effet anxiolytique similaire à celui des benzodiazépines mais sans leurs effets secondaires (**Candelario et al., 2015**).

Par ailleurs, les withanolides stimulent la neurogenèse hippocampique et augmentent les taux de BDNF (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*), facteur de croissance nerveux dont la réduction est impliquée dans la physiopathologie de la dépression (**Bhattacharya et Muruganandam, 2003**). Ces mécanismes combinés expliquent la réduction du temps d'immobilité et l'augmentation des temps de natation et d'escalade observées dans ce groupe, qui reflètent une amélioration significative de l'état comportemental des rats.

Nous expliquons l'augmentation du temps moyen de natation et d'escalade et la diminution du temps d'immobilité dans le groupe de rats traités avec le kéfir par son action sur l'axe intestin-cerveau (*gut-brain axis*), mécanisme par lequel les bactéries probiotiques du kéfir (*Lactobacillus kefirianofaciens*, *Lentilactobacillus kefir*, *Lactococcus lactis*) exercent une influence directe sur le système nerveux central. En effet, les probiotiques du kéfir modulent la composition du microbiote intestinal, renforcent l'intégrité de la barrière épithéliale intestinale et réduisent la translocation des lipopolysaccharides (LPS) dans la circulation systémique, diminuant ainsi l'activation neuroinflammatoire chronique associée aux états anxio-dépressifs (**Ait-Belgnaoui et al., 2012**). Par ailleurs, les bactéries du kéfir produisent du GABA et stimulent la production intestinale de sérotonine neurotransmetteur dont 90 % est synthétisé dans l'intestin via la voie du nerf vague, normalisent ainsi la signalisation sérotoninergique impliquée dans la régulation de l'humeur et du comportement (**Liang et al., 2015**). Ces effets expliquent la réduction du comportement de désespoir comportemental observée dans ce groupe.

Nous expliquons enfin la normalisation la plus marquée du comportement dans le groupe traité par le mélange *Withanai somnifera* L+ kéfir, dont les temps d'immobilité les plus faibles ($58,0 \text{ s} \pm 2,9$ au premier test et $28,0 \text{ s} \pm 1,8$ au deuxième test) et les temps de natation et d'escalade les plus élevés parmi tous les groupes traités, par la synergie entre les deux composantes de notre formulation. Cette synergie repose sur la complémentarité de leurs mécanismes d'action respectifs : l'action centrale des withanolides sur l'axe HPA, le système GABAergique et la neurogenèse hippocampique d'une part, et l'action périphérique des probiotiques du kéfir sur le microbiote intestinal, la barrière intestinale et la signalisation sérotonine-vagale d'autre part (**Bhattacharya et Muruganandam, 2003 ; Liang et al., 2015 ; Ait-Belgnaoui et al., 2012**). La progression entre le premier et le deuxième test où les temps de natation et d'escalade augmentent et le temps d'immobilité diminue davantage confirme que

l'effet thérapeutique de notre formulation est cumulatif et s'intensifie avec la durée du traitement, ce qui est caractéristique des substances adaptogènes dont l'efficacité se développe progressivement sur plusieurs semaines (**Bhattacharya et Muruganandam, 2003**).

Ces résultats confirment le potentiel anxiolytique et antidépresseur de notre mélange *Withanai somnifera* + kéfir, dont l'efficacité comportementale est comparable à celle du médicament de référence Magnol stress, ce qui mérite d'être confirmé par des analyses statistiques complémentaires.

II.6.2. Test du labyrinthe en croix surélevée (EPMT)

Ce test a été réalisé pendant 5 minutes, dans lesquelles le comportement de la souris a été suivi et les paramètres ont été calculés : le temps qu'elle a passé dans les bras ouverts et fermés et le nombre de fois où elle est passée aux bras ouverts.

Les résultats sont exprimés en temps moyenne passé par les rats dans les deux bras en secondes et en nombre de fois passés à bras ouverts pour les deux tests (1 et 2) comme le montrent les deux figures 21 et 22 suivantes :

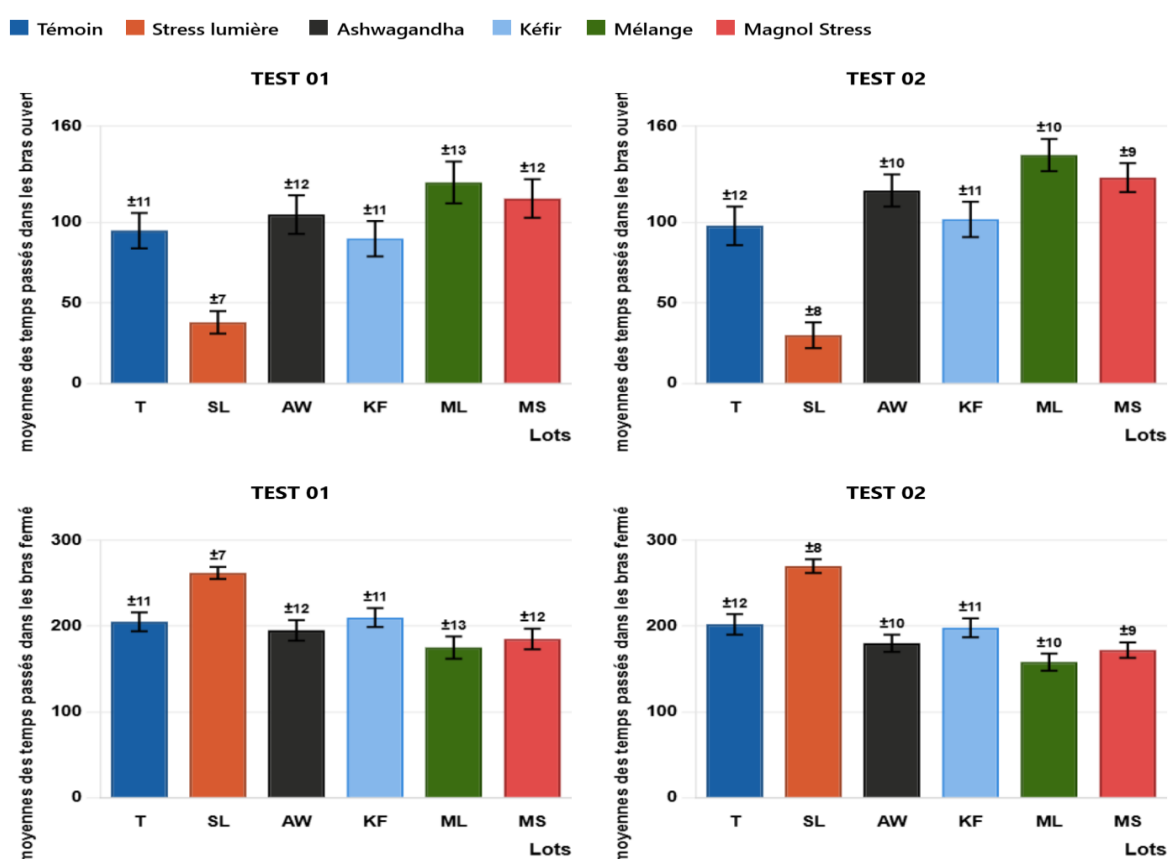


Figure 21: Moyennes de temps passé dans les bras fermée et ouvert au deux test du labyrinthe en croix surélevée et pour chaque lots

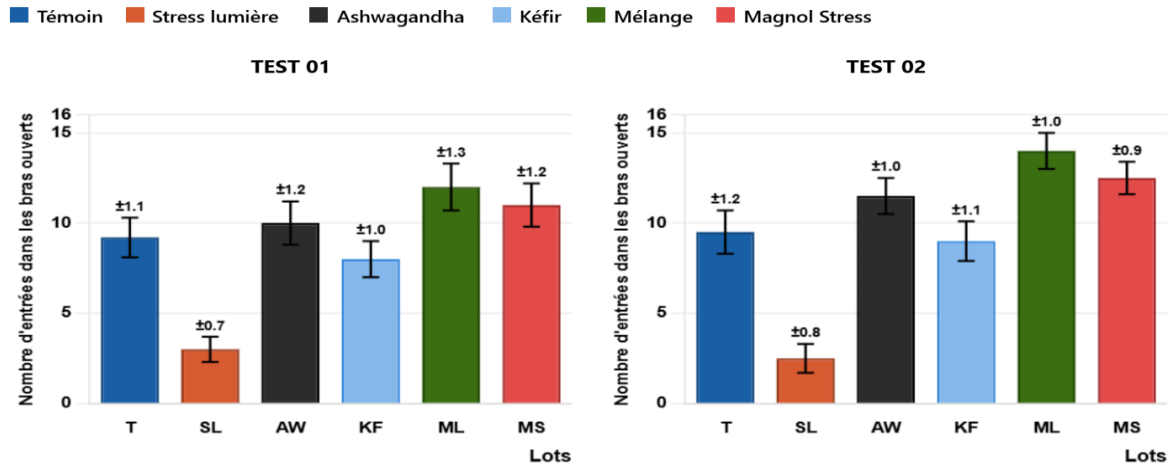


Figure 22 : Moyenne de nombre d'entrées dans les bras ouverts aux deux tests de labyrinthe en croix surélevée pour chaque lots

D'après les résultats présentés dans les histogrammes des deux tests, nous remarquons que le temps moyen passé dans les bras fermés était plus élevé dans le lot des rats stressés par rapport aux lots des rats témoins et aux lots traités, comme le temps moyen lors du premier test a atteint $262,0 \text{ s} \pm 7,0$ et lors du deuxième test $270,0 \text{ s} \pm 8,0$. Quant au temps moyen passé dans les bras ouverts, il était le plus élevé dans le lot traité avec le mélange (*Withanai somnifera* L+ kéfir) par rapport aux autres lots traités, puisqu'il a atteint $125,0 \text{ s} \pm 13,0$ dans le premier test et $142,0 \text{ s} \pm 10,0$ dans le deuxième test, valeurs comparables à celles du lot traité avec le médicament de référence Magnol stress. Il a également été noté que le lot des rats stressés a enregistré les valeurs moyennes les plus faibles de temps passé dans les bras ouverts, atteignant $38,0 \text{ s} \pm 7,0$ dans le premier test et $30,0 \text{ s} \pm 8,0$ dans le deuxième test, ainsi que le plus faible nombre d'entrées dans les bras ouverts ($3,0 \pm 0,7$ puis $2,5 \pm 0,8$).

Ces résultats sont cohérents avec les travaux de (**Bhattacharya et Muruganandam . , 2003 et de Liang et al. , 2015**), qui ont constaté que les rongeurs stressés passaient plus de temps dans les bras fermés, tandis que les animaux traités passaient plus de temps dans les bras ouverts avec un nombre d'entrées plus élevé.

Nous expliquons l'augmentation du temps moyen passé dans les bras fermés par rapport aux bras ouverts dans le lot des rats stressés par le fait que, dans le test du labyrinthe en croix surélevée, un animal présentant une diminution du nombre d'entrées ou du temps passé dans les bras ouverts manifeste un niveau accru d'anxiété (**Tapia-Osorio et al., 2013**).

En effet, l'évitement des espaces ouverts et exposés constitue un paramètre quantitatif fiable d'appréciation du stress, car le rongeur anxieux privilégie les zones fermées et protégées



qui réduisent son exposition au danger. Cette anxiété accrue résulte de l'hyperactivation de l'axe HPA induite par l'exposition lumineuse continue de 24 heures, entraînant une hypersécrétion soutenue de corticostérone qui amplifie les comportements d'évitement et de peur (**Segerstrom et Miller, 2004**). Ceci explique également le nombre décroissant d'entrées dans les bras ouverts observé dans ce lot lors des deux tests

Quant au lot témoin, nous expliquons sa préférence relative pour les bras fermés par le fait que les rats non stressés ne sont pas nécessairement dans un état pathologique d'anxiété ; il est naturel qu'ils aient recours à un comportement de prudence lié à la peur instinctive des hauteurs et des espaces ouverts, se dirigeant vers les bras fermés qui leur offrent un plus grand degré de sécurité. Le nouvel environnement constitue en lui-même un facteur stimulant une anxiété physiologique modérée, ce qui explique un nombre d'entrées dans les bras ouverts intermédiaire entre celui des rats stressés et celui des rats traités.

Nous expliquons l'augmentation du nombre d'entrées et du temps moyen passé dans les bras ouverts dans le lot traité avec l'extrait de *Withanai somnifera* L (50 mg/kg) par la richesse de cette plante en withanolides, composés bioactifs dotés d'une activité anxiolytique. Ces composés agissent en se liant directement aux récepteurs GABA-A, produisant un effet sédatif et anxiolytique comparable à celui des benzodiazépines, et en réduisant la sécrétion de corticostérone par modulation de l'axe HPA, ce qui diminue l'état d'anxiété et favorise l'exploration des zones ouvertes anxiogènes (**Bhattacharya et Muruganandam., 2003 ; Candenario et al., 2015**).

Nous expliquons également l'augmentation du nombre d'entrées et du temps passé dans les bras ouverts dans le lot traité avec le kéfir par son action antidépressive et anxiolytique exercée via l'axe intestin-cerveau. En effet, les bactéries probiotiques du kéfir renforcent et améliorent la microflore intestinale, ce qui affecte à son tour le système nerveux central en normalisant la production de sérotonine et de GABA et en réduisant la neuroinflammation associée aux états anxieux (**Liang et al., 2015 ; Ait-Belgnaoui et al., 2012**). Ceci explique l'atténuation du comportement d'évitement et la sortie plus fréquente vers les bras ouverts dans ce lot.

Nous expliquons l'augmentation la plus marquée du nombre d'entrées et du temps passé dans les bras ouverts dans le lot traité avec le mélange *Withanai somnifera* L + kéfir, par rapport aux autres lots traités, par la combinaison synergique de deux composantes possédantes chacune des propriétés anxiolytiques complémentaires. Cette synergie associe l'action centrale

des withanolides sur l'axe HPA et le système GABA ergique à l'action périphérique des probiotiques du kéfir sur le microbiote intestinal et la signalisation sérotoninergique, produisant un effet anxiolytique global supérieur (**Bhattacharya et Muruganandam, 2003 ; Liang et al., 2015 ; Ait-Belgnaoui et al., 2012**). La progression observée entre le premier et le deuxième test, où le temps passé dans les bras ouverts et le nombre d'entrées augmentent davantage, confirme que l'effet anxiolytique de notre formulation est cumulatif et s'intensifie avec la durée du traitement, ce qui est caractéristique des substances adaptogènes. Ces résultats indiquent que notre mélange a permis une réduction de l'anxiété comparable, voire supérieure, à celle du médicament de référence Magnol stress, ce qui suggère un potentiel anxiolytique intéressant méritant d'être confirmé par des analyses statistiques complémentaires.

II.7. Réalisation d'analyses médicales

II.7.1. Analyse du numération de la formule sanguine

L'analyse FNS évalue différentes cellules sanguines. Les résultats du numération de la formule sanguine sont affichés sous forme de nombre moyenne de cellules pour chacun des paramètres : GB, Lym, Mid et Gra $\pm$ écart type, les résultats ils sont illustrés par des histogrammes dans la figure suivante (figure 23).

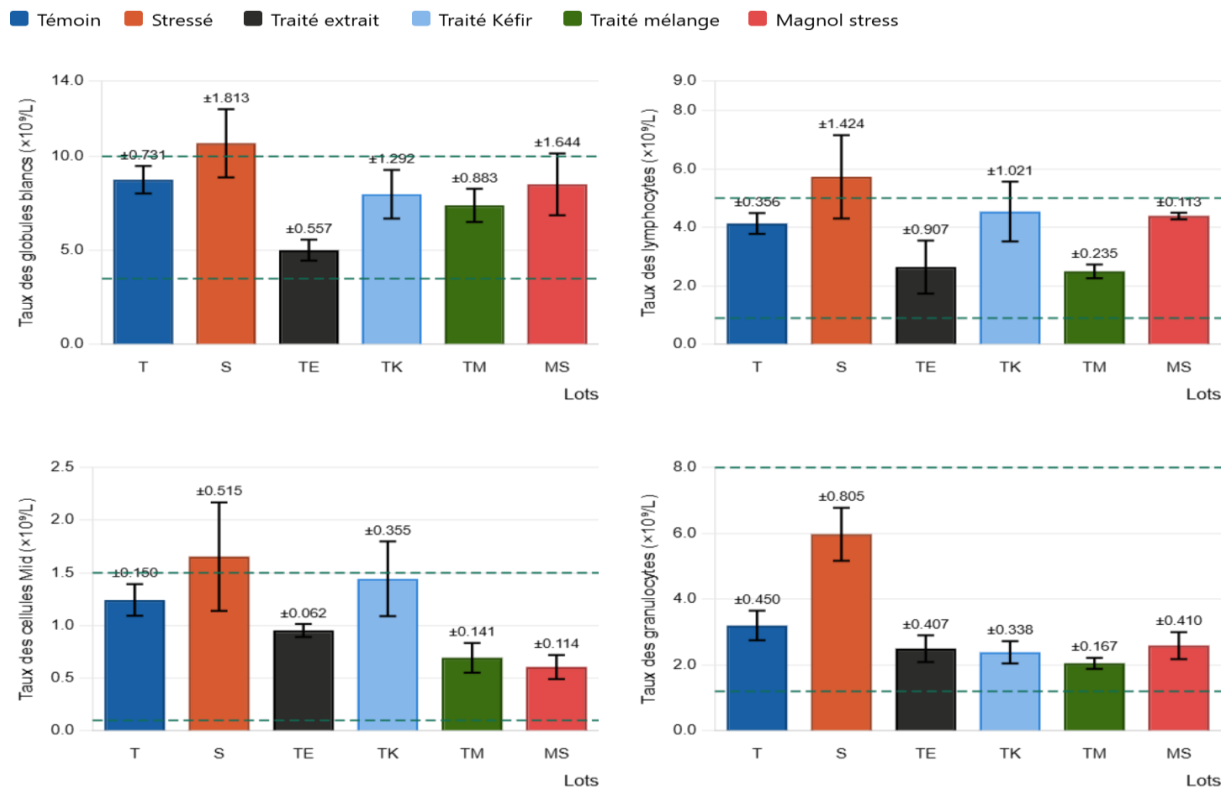


Figure 23 : Résultats de FNS chez les rats de lots témoin et stressée et lots traités

Sur la base des résultats montrés dans les histogrammes du test FNS, nous remarquons une augmentation du nombre moyen de leucocytes, de lymphocytes, de granulocytes et de cellules Mid dans le lot de souris stressées par rapport au lot de souris témoins, où le nombre de leucocytes a atteint $10,695 \times 10^9/L \pm 1,813$, le nombre de lymphocytes a atteint $5,729 \times 10^9/L \pm 1,424$, le nombre de granulocytes a atteint $5,972 \times 10^9/L \pm 0,805$ et le nombre de cellules Mid a atteint $1,654 \times 10^9/L \pm 0,515$. Ces valeurs dépassent celles du groupe témoin et s'écartent des valeurs normales de référence (GB : 3,5–10 ; Lym : 0,9–5 ; Gra : 1,2–8 ; Mid : 0,1–1,5 $\times 10^9/L$). Nous remarquons également une diminution progressive du nombre moyen de leucocytes, de lymphocytes, de granulocytes et de cellules Mid dans les lots de souris traitées avec les différentes solutions, à mesure qu'ils diminuent et reviennent aux valeurs normales du test FNS.

Les résultats obtenus sont cohérents avec les travaux par **(Tapia-Osorio et al. 2013 , et Segerstrom et Miller 2004)** , qui ont montré que le stress chronique perturbe les paramètres immunitaires en activant une réponse inflammatoire systémique, et ces études sont tout à fait cohérentes avec les résultats de notre étude.

Nous expliquons ces résultats en disant que le stress chronique induit par l'exposition lumineuse continue de 24 heures provoque une perturbation du rythme circadien et une désorganisation du noyau suprachiasmatique, entraînant une hypersécrétion soutenue de corticostérone plasmatique **(Tapia-Osorio et al., 2013)**. Cette hypersécrétion hormonale active l'axe HPA et déclenche une réponse inflammatoire aiguë caractérisée par une leucocytose, une lymphocytose et une neutrophilie réactionnelles **(Segerstrom & Miller, 2004)**. De nombreuses études ont également montré que le stress affecte les réponses immunitaires chez les animaux et les humains en stimulant la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-6 et le TNF- α , conduisant à une activation excessive du système immunitaire inné **(Segerstrom et Miller, 2004)**. Ceci explique l'augmentation du nombre moyen de leucocytes, de lymphocytes, de granulocytes et de cellules Mid dans le groupe de souris stressées.

Nous expliquons la réactivation du système immunitaire dans le groupe de souris traitées avec l'extrait de *Withanai somnifera* L seul en disant que les withanolides de cette plante moduleraient l'axe HPA en réduisant la sécrétion de CRH, d'ACTH et de corticostérone, atténuant ainsi la réponse inflammatoire systémique et normalisant les paramètres immunitaires **(Bhattacharya et Muruganandam, 2003)**. Ceci explique le retour des valeurs de leucocytes, de lymphocytes, de granulocytes et de cellules Mid vers les valeurs normales dans ce groupe.

Nous expliquons la réduction enregistrée dans le groupe traité par le kéfir seul en disant que les bactéries probiotiques du kéfir contribueraient à restaurer l'équilibre du microbiote

intestinal et à renforcer l'intégrité de la barrière intestinale, diminuant ainsi la translocation des lipopolysaccharides (LPS) et l'activation du système immunitaire inné (**Ait-Belgnaoui et al., 2012**). Ceci explique la diminution partielle des paramètres immunitaires observée dans ce groupe.

Nous expliquons enfin la normalisation la plus marquée observée dans le groupe traité par le mélange *Withanai somnifera* L+ kéfir en disant que la combinaison des deux composantes de notre formulation exerce une action synergique, associant l'effet central des withanolides sur l'axe HPA à l'effet périphérique des probiotiques sur l'axe intestin-cerveau (**Bhattacharya et Muruganandam, 2003 ; Ait-Belgnaoui et al., 2012**). Ceci explique que ce groupe ait présenté les valeurs les plus proches des valeurs normales parmi tous les groupes traités, surpassant l'effet du médicament de référence Magnol stress, ce qui suggère une activité immunomodulatrice potentiellement intéressante qui mérite d'être confirmée par des analyses statistiques complémentaires.

II.7.2. Analyse d'hormone cortisol

Dans cette étude nous avons analysé les niveaux de cortisol sur un rat de chacun des lots de souris, et les résultats sont présentés dans (figure 24).



Figure 24 : Résultat d'hormone cortisol chez les rats témoin et stressée et traités

D'après les résultats montrés dans la figure (24), nous avons constaté une augmentation significative du taux moyen de cortisol dans le groupe stressé (46,7 nmol/L) par rapport au groupe témoin (24,94 nmol/L), soit une élévation d'environ 87 %. En revanche, les groupes

traités révèlent une diminution progressive du taux de cortisol : le groupe traité avec l'extrait seul a montré 32,4 nmol/L et le groupe traité par le kéfir 35,0 nmol/L, le groupe traité avec le mélange *Withanai somnifera* L+ kéfir affiche la valeur la plus basse de tous les groupes traités avec 28,66 nmol/L, valeur très proche de ceux observés dans le groupe témoin et groupe au médicament de référence Magnol stress (25,4 nmol/L).

Les taux de cortisol élevés détectés chez le groupe stressé peuvent être attribués à l'activation prolongée de l'axe HPA induite par l'exposition lumineuse continue pendant 24 heures, entraînant une désorganisation du noyau suprachiasmatique et une hypersécrétion prolongée de CRH, d'ACTH et de corticostérone plasmatique (Tapia-Osorio *et al.*, 2013). Cette hyperactivation de l'axe HPA est la réaction physiologique typique au stress chronique, abondamment décrite dans la littérature (Segerstrom et Miller, 2004).

Par deux mécanismes de type complémentaire, nous justifions également l'énorme diminution que l'on observe sur le taux de cortisol dans notre groupe traité par le mélange *Withanai somnifera* L+ kéfir. Les withanolides de *Withanai somnifera* L, d'une part, bloquent la libération de CRH et d'ACTH au niveau hypothalamique et hypophysaire, et ainsi diminuent la stimulation des surrénales et la production de cortisol (Chandrasekhar *et al.*, 2012).

Cette activité adaptogène a été démontrée par plusieurs études cliniques montrant une diminution du cortisol sérique pouvant atteindre 27,9 % après un traitement de 60 jours (Chandrasekhar *et al.*, 2012). Par ailleurs, les probiotiques du kéfir agiraient sur l'axe intestin-cerveau en diminuant la perméabilité intestinale et la translocation des LPS, réduisant ainsi l'activation inflammatoire systémique à l'origine de la stimulation chronique de l'axe HPA (Ait-Belgnaoui *et al.*, 2012). Les résultats de notre étude montrent que la combinaison *Withanai somnifera* L+ kéfir a un effet synergique sur la baisse du cortisol, confirmant son potentiel adaptogène et anxiolytique.

II.8. Résultats de l'évaluation sensorielle des gummies à base de *Withanai somnifera*. et Kéfir

Les résultats de l'évaluation sensorielle réalisée auprès du panel de 50 dégustateurs sont présentés dans le tableau (13) et illustrés par la figure (25). Ces résultats rassemblent les scores moyens obtenus pour chacun des sept critères sensoriels évalués, leurs taux d'acceptation respectifs, ainsi que la répartition de l'intention d'achat du produit

Tableau 13 : Scores moyens et taux d'acceptation des sept critères sensoriels des gummies (n = 50)

Critère sensoriel	Score moyen (/9)	Taux d'acceptation (%)
Couleur	7.6	84

Texture	7.5	84
Apparence générale	7.4	84
Acceptabilité globale	7.3	84
Goût	7	76
Odeur	6.1	64
Arrière -goût	5.9	60

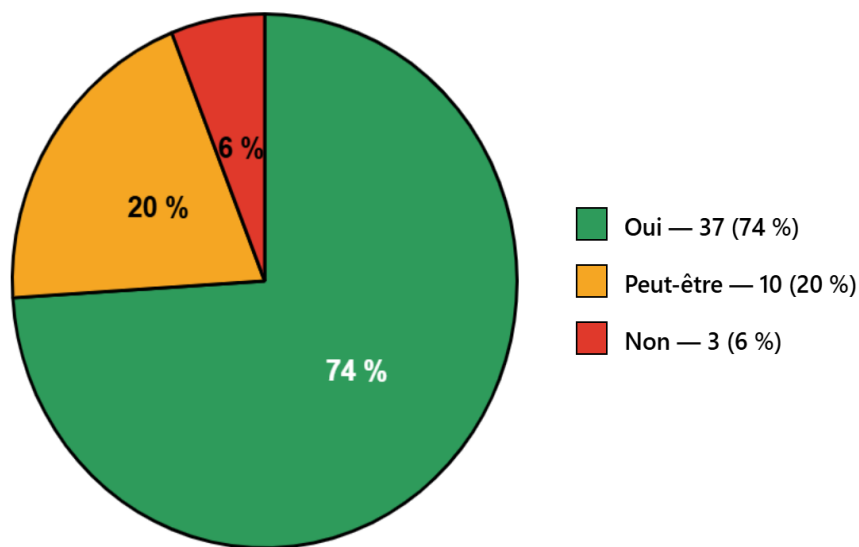


Figure 25 : Répartition de l'intention d'achat des gummies fonctionnelles (*Withanai somnifera* L+ kéfir) au sein du panel de dégustation (n = 50)

Nous avons constaté que la couleur a obtenu le score moyen le plus élevé (7,6/9), suivie de la texture (7,5/9), de l'apparence générale (7,4/9) et de l'acceptabilité globale (7,3/9), tous atteignant un taux d'acceptation de 84 %. Nous avons relevé un score satisfaisant pour le goût (7,0/9 ; 76 %), tandis que l'odeur (6,1/9 ; 64 %) et l'arrière-goût (5,9/9 ; 60 %) ont reçu les évaluations les plus faibles. Nous avons enfin observé que 74 % des participants se sont déclarés prêts à acheter le produit, contre 20 % d'indécis et 6 % de refus.

Sur le plan statistique, nous avons réalisé une analyse de variance (ANOVA) qui révèle une différence hautement significative entre les sept critères sensoriels ($F = 4,52$; $p < 0,001$), confirmant que les paramètres ne sont pas perçus de manière homogène par le panel. Nous avons obtenu un coefficient alpha de Cronbach de 0,913, attestant d'une excellente cohérence interne de notre questionnaire et garantissant la fiabilité des données recueillies. Nous avons

également confirmé, au moyen du test t, que l'acceptabilité globale est significativement supérieure au seuil de neutralité ($t = 8,68$; $p < 0,001$), et le test du khi-deux a démontré que la répartition de l'intention d'achat n'est pas aléatoire ($\chi^2 = 38,68$; $p < 0,001$).

Nous expliquons les scores élevés obtenus pour la couleur, l'apparence et la texture par le succès de notre formulation sur le plan visuel et physique, notamment grâce à l'incorporation de la poudre de dattes Deglet Nour qui confère au produit une couleur naturelle attrayante et une texture moelleuse appréciée. Ces résultats concordent avec les travaux de **(Tarahi et al, 2024)**, qui ont souligné que les propriétés visuelles et texturales constituent les premiers déterminants de l'acceptabilité des gummies fonctionnelles.

Nous expliquons les scores plus faibles obtenus pour l'odeur et l'arrière-goût par la présence des composés bioactifs caractéristiques de nos ingrédients fonctionnels. En effet, *Withanai somnifera* L possède une saveur amère et terreuse prononcée due à ses withanolides, tandis que le kéfir présente une odeur fermentaire acidulée. Ce constat rejoint les observations de **(Mikulska et al ,2023)**, qui ont rapporté que l'amertume caractéristique de *Withanai somnifera* L constitue le principal obstacle organoleptique à son incorporation dans les produits alimentaires. De même, **(Kurian et al, (2025)** ont noté que le masquage du goût des extraits botaniques demeure le défi majeur de la formulation des gummies à base de plantes.

Nous expliquons le taux élevé d'intention d'achat (74 %) par l'équilibre globalement favorable entre les qualités sensorielles du produit et l'intérêt croissant des consommateurs pour les aliments fonctionnels anti-stress, tendance confirmée par les analyses de marché récentes **(Grand View Research, 2025)**. La cohérence entre l'acceptabilité globale élevée (84 %) et l'intention d'achat (74 %) renforce la validité de nos résultats. Enfin, conformément à la recommandation de **(Kean et Adeleke ,2023)**, nous suggérons que l'amélioration de la flaveur résiduelle par l'ajout d'arômes naturels (agrumes ou fruits rouges) permettrait de convertir la frange indécise (20 %) et d'optimiser l'acceptabilité globale du produit.

Conclusion

L'anxiété et le stress comptent parmi les troubles psychologiques les plus répandus, qui nécessitent une attention particulière en matière de traitement et de prise en charge. Dans cette optique, notre étude s'est fixé pour objectif de concevoir un produit biologique innovant, sous forme de gummies fonctionnelles à base de *Withanai somnifera*, de kéfir et de poudre de dattes, destiné à atténuer l'anxiété et le stress.

Ce travail a abouti à des résultats encourageants, à commencer par la caractérisation chimique de la plante *Withanai somnifera*. L'extrait méthanolique des racines a présenté un rendement de 6 %, et les tests phytochimiques ont révélé la richesse de la plante en métabolites secondaires, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les terpènes, les alcaloïdes, les saponines, les tanins et les glycosides. Le dosage quantitatif a permis d'évaluer la teneur en polyphénols totaux à $0,163 \pm 0,011$ µg EAG/mg Ex, en flavonoïdes à $0,197 \pm 0,004$ µg EQu/mg Ex et en tanins condensés à $0,353 \pm 0,011$ mg ECT/mL Ex. Sur le plan des activités biologiques, le test DPPH a mis en évidence une activité antioxydante élevée ($IC_{50} = 0,134 \pm 0,013$ µg/mL), supérieure à celle de l'acide ascorbique ($0,182$ µg/mL), ce que le test FRAP est venu confirmer ($86,58 \pm 0,62$ mg EAA/g Ex).

Ces données nous permettent d'affirmer que l'extrait de racine de *Withanai somnifera* contribue efficacement à réduire l'anxiété et le stress, grâce à sa richesse en composés actifs tels que les polyphénols et les flavonoïdes, impliqués dans la régulation des niveaux de cortisol, ce qui renforce sa valeur en tant que remède naturel.

Les tests comportementaux appliqués aux rats, à savoir le test de nage forcée et le test du labyrinthe en croix surélevée, réalisés à deux reprises, ont également confirmé l'efficacité du traitement. Le kéfir, l'extrait de *Withanai somnifera*, et surtout leur mélange, ont exercé un effet significatif sur le comportement des animaux. Le lot traité par le mélange a notamment présenté une nette amélioration par rapport au groupe stressé, avec une diminution marquée du temps d'immobilité (28 s lors du second test) et une augmentation des temps de natation (142 s) et d'escalade (70 s). De même, au labyrinthe surélevé, ce lot a passé davantage de temps dans les bras ouverts (142 s) et y a effectué le plus grand nombre d'entrées (14 entrées), traduisant une réduction de l'anxiété et une plus grande propension à explorer les espaces ouverts malgré leur caractère anxiogène. L'ensemble de ces observations renforce le rôle du kéfir et de *Withanai somnifera* dans l'amélioration du comportement et de l'humeur, les effets les plus marqués découlant de leur association.

Nous avons par ailleurs complété notre étude par des analyses hématologiques (formule de numération sanguine, FNS) et hormonales (dosage du cortisol). Chez le lot traité par le mélange, les paramètres immunitaires se sont normalisés, faisant suite à l'élévation initialement observée chez les rats stressés au niveau des leucocytes, des lymphocytes, des cellules Mid et des granulocytes. Le traitement ne se limite donc pas à atténuer l'anxiété et le stress, mais participe également à la restauration du système immunitaire. Le dosage du cortisol s'est révélé tout aussi probant : son taux, élevé chez le groupe stressé (46,7 nmol/L), a nettement diminué chez le lot traité par le mélange (28,66 nmol/L), ce qui confirme le rôle de cette association dans le contrôle de la cortisolémie et de l'humeur.

Enfin, l'évaluation sensorielle de notre produit fini, menée auprès d'un panel de 50 dégustateurs, a confirmé une bonne acceptabilité des gummies, avec un taux d'acceptation global de 84 % et une intention d'achat de 74 %, témoignant du potentiel commercial et nutraceutique de notre formulation.

À l'issue de ce travail, nous formulons les recommandations suivantes :

- Recourir aux compléments à base de *Withanai somnifera* L. pour atténuer l'anxiété, tout en consultant un spécialiste au préalable afin d'en garantir l'efficacité et la sécurité.
- Associer *Withanai somnifera* L. à des pratiques telles que la méditation et la respiration profonde, pour renforcer la réduction du stress et améliorer la santé mentale.
- Adopter un mode de vie sain et équilibré, comprenant un sommeil de qualité, une alimentation équilibrée et un soutien social, afin de promouvoir durablement la santé mentale.
- Mener à l'avenir des études plus larges pour évaluer l'effet de *Withanai somnifera* L. sur différentes catégories de population, afin d'assurer la généralisation des résultats.

Comme toute étude, la nôtre n'a pas été exempte de difficultés, ce qui nous a permis de dégager les perspectives suivantes, sur lesquelles nous espérons que les recherches futures se concentreront :

- Approfondir l'identification et la quantification des withanolides, principes actifs majeurs de *Withanai somnifera*, afin de préciser leur contribution à l'effet anti-stress.
- Étudier la stabilité physico-chimique et la durée de conservation des gummies, ainsi que la viabilité des probiotiques du kéfir au cours du stockage, en recourant éventuellement aux techniques de microencapsulation.
- Développer cette étude en l'appliquant à l'être humain, à travers des essais cliniques.
- Compléter ce travail par une étude anatomique et histologique du cerveau.

Références



Références

1. Abascal, K., & Yarnell, E. (2004). Nervine herbs for treating anxiety. *Alternative & Complementary Therapies*, 10(6), 113–114. <https://doi.org/10.1089/act.2004.10.309>
2. Abd Aziz, Z.H., Katas, H., Omar, M.S., Mohamed Shah, N. et Yusop, S.M. (2022). Preference, Perception, and Acceptability of Fluid Gels as a Potential Age-Appropriate Dosage Form for Elderly Patients with Dysphagia. *Gels*, 8(4), 218. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9028045/>
3. Aburto, M. R., & Cryan, J. F. (2024). Gastrointestinal and brain barriers: unlocking gates of communication across the microbiota–gut–brain axis. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 21(4), 222-247.
4. Ait-Belgnaoui, A., Durand, H., Cartier, C., Chaumaz, G., Eutamene, H., Ferrier, L., Houdeau, E., Fioramonti, J., Bueno, L. et Theodorou, V. (2012). Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats.
5. Akli Y. & Ould Saadi L. (2023). Essai de fabrication d'un kéfir de lait en suivant deux temps de fermentation. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri.
6. Ali Haimoud S. & Allem R. (2023). Algerian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit cultivars: HPLC fingerprinting and antibacterial activity. *Foods and Raw Materials*, 11(1), 17-24.
7. Allen, L.V. (2020). Lozenges, Troches, and Films. In *The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding* (6^e éd., chap. 14). American Pharmacists Association. <https://pharmacylibrary.com/doi/10.21019/9781582123578.ch14>
8. Almokhtar A. Adwas, J. M. Jbireal, & Azab Elsayed Azab. (2019). Anxiety: Insights into signs, symptoms, etiology, pathophysiology, and treatment. *East African Scholars Journal of Medical Sciences*, 2(10), 582–583.
9. American Psychiatric Association. (2022). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (5th ed., text rev.; DSM-5-TR), American Psychiatric Publishing ,p. 215.
10. Anonyme1. (2022). [Titre de l'article à compléter]. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. DOI : 10.1016/j.pharma.2022. Disponible en ligne : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001407922001133>
11. ANSES (2024). *Avis relatif aux risques liés à l'utilisation des préparations de Withanai somnifera (L.) Dunal dans les compléments alimentaires* (Saisine n° 2021-SA-0077).

- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.
<https://www.anses.fr/fr/system/files/NUT2021SA0077.pdf>
12. Aquin, J. P., El-Gabalawy, R., Sala, T., & Sareen, J. (2017). Anxiety disorders and general medical conditions: Current research and future directions. *Focus*, 15(2), 174–175. <https://doi.org/10.1176/appi.focus.20160044>.
 13. Aslam S, Raja NI, Hussain M, Iqbal M, Ejaz M, Ashfaq D, Fatima H, Shah MA, Abd-Ur-Rehman, Ehsan M (2017) Current Status of *Withanai somnifera* (L.) Dunal: An Endangered Medicinal Plant from Himalaya. *American Journal of Plant Sciences*, 8, 1159-1169. DOI: 10.4236/ajps.2017.85076
 14. Azazza M.H., Ketfi N.E.Y., Benseba S.A., Merniz N.A. & Nouri M.R. (2024). Contribution à l'élaboration d'un complément alimentaire GUMMIES contre la chute des cheveux. Mémoire de Master, Université Constantine 1 Frères Mentouri.
 15. Beghedadi M. & Bouzrara M. (2022). Technologie de fabrication du kéfir. Mémoire bibliographique. Université Mouloud Mammeri.
 16. Beghedadi, M., & Bouzrara, M. (2022). *Technologie de fabrication du kéfir. Mémoire bibliographique* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
 17. Ben Mya O., Ben Amar L. & Zarroud B. (2017). Deglet Nour dates *Phoenix dactylifera* L.: an alternative source to sugar in Algeria. *Sugar Tech*, 19(3), 337-340.
 18. Bhardwaj, A., Gupta, A., Jain, A., Rani, S., & Tanwar, S. (2022). Review on classification techniques used in biophysiological stress monitoring. arXiv. <https://arxiv.org/abs/2210.16040>
 19. Bhattacharya, S.K. et Muruganandam, A.V. (2003). Adaptogenic activity of *Withanai somnifera* : an experimental study using a rat model of chronic stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75(3), 547–555. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12895672/>
 20. Bonilla, D. A., Moreno, Y., Gho, C., Petro, J. L., Odriozola-Martínez, A., & Kreider, R. B. (2021). Effects of Ashwagandha (*Withanai somnifera*) on physical performance: Systematic review and bayesian meta-analysis. *Journal of functional morphology and kinesiology*, 6(1), 20.
 21. Bosc, M., Dubini, A. et Polin, V. (2000). Development and validation of a social functioning scale, the Social Adaptation Self-evaluation Scale. *Comprehensive Psychiatry*, 41(1), 63–69. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10646621/>
 22. Bruneton, J. (2016). *Pharmacognosie: Phytochimie-plantes médicinales*. Tec & Doc.
 23. Burey, P., Bhandari, B.R., Rutgers, R.P.G., Halley, P.J. et Torley, P.J. (2009). Confectionery Gels : A Review on Formulation, Rheological and Structural Aspects.

- International Journal of Food Properties*, 12(1), 176–210.
<https://doi.org/10.1080/10942910802223404>
24. Candelario, M., Cuellar, E., Reyes-Ruiz, J.M., Darabedian, N., Feimeng, Z., Miledi, R., Russo-Neustadt, A. et Limon, A. (2015). Direct evidence for GABAergic activity of *Withania somnifera* on mammalian ionotropic GABA-A and GABA- ρ receptors. *Journal of Ethnopharmacology*, 171, 264–272. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26361718/>
 25. Carobrez, A. P., & Bertoglio, L. J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(8), 1193–1205.
 26. Castagné, V., Moser, P., Roux, S. et Porsolt, R.D. (2010). Rodent models of depression : forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. *Current Protocols in Neuroscience*, Chapter 8, Unit 8.10A. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21110254/>
 27. Cesare-Herriau, R., & Abriouel Hayani, H. (2016). LEVURES DES GRAINS DE KÉFIR TRADITIONNEL ET LEUR POTENTIEL COMME PROBIOTIQUE.
 28. Chambeaudie, M. (2025). *Diversité et écologie microbienne au sein du kéfir de fruit, un consortium microbien naturel issu d'une pratique traditionnelle de fermentation* (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).
 29. Chand, S. P., & Marwaha, R. (2023). Anxiety. In StatPearls. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470361/>.
 30. Chandrasekhar, K., Kapoor, J. et Anishetty, S. (2012). A prospective, randomized double-blind, placebo-controlled study of safety and efficacy of a high-concentration full-spectrum extract of ashwagandha root in reducing stress and anxiety in adults. *Indian Journal of Psychological Medicine*, 34(3), 255–262. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3573577/>
 31. Cohen, P.A., Avula, B., Wang, Y.-H., Katragunta, K. et Khan, I. (2023). Quantity of Melatonin and CBD in Melatonin Gummies Sold in the US. *JAMA*, 329(16), 1401–1402. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10130950/>
 32. Commons, K. G., Cholanians, A. B., Babb, J. A., & Ehlinger, D. G. (2017). The forced swim test: Methodological considerations and behavioral analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*.
 33. Cryan, J. F., Valentino, R. J., & Lucki, I. (2020). Assessing antidepressant-like effects using behavioral models: Updates and perspectives. *Neuropharmacology*.

34. da Anunciação, T. A., Guedes, J. D. S., Tavares, P. P. L. G., de Melo Borges, F. E., Ferreira, D. D., Costa, J. A. V., ... & Magalhães-Guedes, K. T. (2024). Biological significance of probiotic microorganisms from kefir and kombucha: a review. *Microorganisms*, 12(6), 1127.
35. Daghmash, R.M., Khanfar, M.S. et Darweesh, R.S. (2024). Risperidone Pellets, Pycnogenol® and Glucomannan Gummy Formulation for Managing Weight Gain and ADHD in Autistic Children. *Pharmaceutics*, 16(8), 1062. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11360717/>
36. demartini, J., patel, G., & fancher, T. L. (2019). generalized anxiety disorder. *annals of internal medicine*, 170(7), ITC49-ITC64. doi:10.7326/AITC201904020.
37. Dengane D.R., Vishwasrao A.R. & Khaladkar S. (2024). Review of Antidiabetic Gummies Formulation using Herbal Drugs. *IJARSC*, 4(5), 212-219.
38. Dhal, S., Pal, A., Gramza-Michałowska, A., Kim, D., Mohanty, B., Sagiri, S.S. et Pal, K. (2023). Formulation and Characterization of Emulgel-Based Jelly Candy : A Preliminary Study on Nutraceutical Delivery. *Gels*, 9(6), 466. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10298008/>
39. Dhruv Pandya, Archana Mankad , and Himanshu Pandya .(2022) .Areview on *Withanai somnifera*(L.)dunal_as an important ayurveda plant . International association of biologicals and computational digest international et peer_reviewed journal E_ISSN : 2583_3995 <https://iabcd.org.in/>
40. Djaoud K. *et al.* (2020). Dairy dessert processing: sugar substitution by date syrup and powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(5), e14414.
41. Dunn, E. (2022). Cultivation, propagation, morphology, and phytochemistry of *Withanai somnifera*.
42. Epel, E. S., Crosswell, A. D., Mayer, S. E., Prather, A. A., Slavich, G. M., Puterman, E., & Mendes, W. B. (2018). More than a feeling: A unified view of stress measurement for population science. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 49, 146–169. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.03.001>
43. Fagan, H. A., & Baldwin, D. S. (2023). Pharmacological treatment of generalised anxiety disorder: Current practice and future directions. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 23(6), 547–548. <https://doi.org/10.1080/14737175.2023.2211767>.
44. François, M., Canal Delgado, I., Shargorodsky, N., Leu, C. S., & Zeltser, L. M. (2022). Assessing the effects of stress on feeding behaviors in laboratory mice. *eLife*, 11, Article e70271. <https://doi.org/10.7554/eLife.70271>

45. Goethe, J.W., Woolley, S.B., Cardoni, A.A., Woznicki, B.A. et Piez, D.A. (2007). Selective serotonin reuptake inhibitor discontinuation: side effects and other factors that influence medication adherence. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 27(5), 451–458. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17873676/>
46. Grand View Research (2025). *Gummy Market Size, Share & Trends Analysis Report, 2025–2033*. <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/gummy-market-report>
47. Harris, R. B. S., et al. (2002). *Weight loss in rats exposed to repeated acute restraint stress is independent of energy or leptin status*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 282, R77–R88.
48. Kairys, N., Schwell, A., & Hine, J. (2024). Physiology, stress reaction. In StatPearls. StatPearls Publishing .Retrieved June 11, 2026, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541120/>
49. Kashyap, V. K., Peasah-Darkwah, G., Dhasmana, A., Jaggi, M., Yallapu, M. M., & Chauhan, S. C. (2022). *Withanai somnifera*: Progress towards a pharmaceutical agent for immunomodulation and cancer therapeutics. *Pharmaceutics*, 14(3), 611.
50. Kaul, S. C., & Wadhwa, R. (Eds.). (2017). *Science of Ashwagandha: Preventive and therapeutic potentials* (p. 508). Cham: Springer International Publishing.
51. Khadri F., Kulkarni P.K., Venkatesh & Joshi H. (2025). Science and Challenges in Formulating Gummies as a Novel Oral Dosage Form. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 33(03), 298-307.
52. Kim, J., Lee, S., Shin, J., Kim, J. H., Park, J. Y., Lee, J. E., et al. (2013). Effects of chronic restraint stress on body weight, food intake, and hypothalamic gene expressions in mice. *Endocrinology and Metabolism*, 28(4), 288–296. <https://doi.org/10.3803/EnM.2013.28.4.288>
53. Komada, M., Takao, K., & Miyakawa, T. (2008). Elevated plus maze for mice. *Journal of Visualized Experiments (JoVE)*.
54. Lajnef, I., Ellouze-Ghorbel, R., Kamoun, A., Blecker, C., Attia, H., & Besbes, S. (2021). Straightforward extraction of date palm syrup from *Phoenix dactylifera* L. byproducts. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(5), 3942–3952. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00961-9>
55. Lelak, K., Vohra, V., Neuman, M.I., Toce, M.S. et Sethuraman, U. (2022). Pediatric Melatonin Ingestions — United States, 2012–2021. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, 71(22), 725–729. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9169525/>

56. Lenane, M. C., Swedo, S. E., Leonard, H., *et al.* (1990). Psychiatric disorders in first-degree relatives of children and adolescents with obsessive compulsive disorder. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 29(3), 407–409. <https://doi.org/10.1097/00004583-199005000-00012>.
57. Liang, S., Wang, T., Hu, X., Luo, J., Li, W., Wu, X., Duan, Y. et Jin, F. (2015). Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. *Neuroscience*, 310, 561–577. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26408987/>
58. Liu H, Qu N, Gonzalez N, *et al.* *A Light-Responsive Neural Circuit Suppresses Feeding*. *J Neurosci*. 2024;44(30):e2192232024. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2192-23.2024.
59. Llorca, P. M., Spadone, C., Sol, O., *et al.* (2002). Efficacy and safety of hydroxyzine in the treatment of generalized anxiety disorder: a 3-month double-blind study. *Journal of Clinical Psychiatry*, 63(11), 1023–1024. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12444816/>.
60. Logrip, S., Ricci, G., Sestili, M., Cespi, M., Ferrara, L., Palmieri, G.F., Ganzetti, R., Bonacucina, G. et Blasi, P. (2017). Oral drug therapy in elderly with dysphagia : between a rock and a hard place ! *Clinical Interventions in Aging*, 12, 241–251. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5295799/>
61. Mandlik, D. S., & Namdeo, A. G. (2021). Pharmacological evaluation of Ashwagandha highlighting its healthcare claims, safety, and toxicity aspects. *Journal of dietary supplements*, 18(2), 183-226.
62. Maqsood S. *et al.* (2020). Bioactive compounds from date fruit and seed as potential nutraceutical and functional food ingredients. *Food Chemistry*, 308, 125522.
63. Mark R. Dadds & Paula M. Barrett. (2001). Psychological management of anxiety disorders in childhood. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 42(8), 999–1001. <https://doi.org/10.1111/1469-7610.00798>.
64. McLaughlin, K. A., Green, J. G., Gruber, M. J., Sampson, N. A., Zaslavsky, A. M., & Kessler, R. C. (2012). Childhood adversities and first onset of psychiatric disorders in a national sample of US adolescents. *Archives of General Psychiatry*, 69(11), 1152–1153.
65. Mikulska, P., Malinowska, M., Ignacyk, M., Szustowski, P., Nowak, J., Pesta, K., Szela, M., Szklanny, D., Judasz, E., Kaczmarek, G., Ejiohuo, O.P., Paczkowska-Walendowska, M., Gościński, A. et Cielecka-Piontek, J. (2023). Ashwagandha (*Withanai somnifera*) — Current Research on the Health-Promoting Activities : A Narrative Review. *Pharmaceutics*, 15(4), 1057. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10147008/>

66. Mohd Razali Salleh. (2008). Life Event, Stress and Illness. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 15(4), 9–18.
67. Molendijk, M. L., & de Kloet, E. R. (2019). The forced swim test in rodents: From behavioral despair to coping strategies. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*
68. Munir, S., & Takov, V. (2022). Generalized Anxiety Disorder. In StatPearls. StatPearls Publishing. Retrieved May 12, 2026, from NCBI Bookshelf.
69. My Scoby. (n.d.). *Qu'est-ce que le kéfir de fruit ?* Retrieved June 4, 2026, from <https://my-scoby.com/blogs/news/quest-ce-que-le-kefir-de-fruit>
70. Nuss, P. (2015). Anxiety disorders and GABA neurotransmission: A disturbance of modulation. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 11, 167–168. <https://doi.org/10.2147/NDT.S58841>.
71. Organisation mondiale de la santé (2019). *Suicide* [Aide-mémoire]. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/suicide>
72. Organisation mondiale de la santé (2023). *Troubles mentaux* [Aide-mémoire]. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>
73. Pakhale, K., Pakhale, R., Srivathsan, M., Langade, J., & Langade, D. (2025). Efficacy and safety of Ashwagandha (*Withanai somnifera*) root extract on stress and weight management in adults: A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Medicine and Life*, 18(12), 1140–1154. <https://doi.org/10.25122/jml-2025-0147>
74. Pandya, D., Mankad, A., & Pandya, H. (2022). A review on *Withanai somnifera* (L.) Dunal as an important Ayurveda plant. *International Association of Biologicals and Computational Digest*, 1(1), 138–144. <https://doi.org/10.56588/iabcd.v1i1.28>
75. Perotti, S., Mantegazza, G., Pierallini, E., Riboni, S., Taverniti, V., Arioli, S., Guglielmetti, S. et Fiore, W. (2024). Human in vivo assessment of the survival and germination of Heyndrickxia coagulans SNZ1969 spores delivered via gummy candies. *Current Research in Food Science*, 9, 100793. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11278553/>
76. Porsolt, R.D., Anton, G., Blavet, N. et Jalfre, M. (1978). Behavioural despair in rats : a new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology*, 47(4), 379–391. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/204499/>
77. Rector, N. A., Bartha, C., Kitchen, K., Katzman, M. A., & Richter, M. A. (2016). Le trouble obsessionnel-compulsif : Guide d'information (P7-8). Centre de toxicomanie et de santé mentale (CAMH).
78. Rocha-Gomes, A., Escobar, A., Soares, J. S., Silva, A. A., Dessimoni-Pinto, N. A. V., & Riul, T. R. (2018). Chemical composition and hypocholesterolemic effect of milk kefir and

- water kefir in Wistar rats. *Revista de Nutrição*, 31(2), 137–145. <https://doi.org/10.1590/1678-98652018000200001>
79. Roux T, Schmitt L, Bougard C, Pallot G, Palme R, Ghaleh B, *et al.* Additional assessment of fecal corticosterone metabolites improves visual rating in the evaluation of stress responses of laboratory rats. *Animals (Basel)*. 2021;11(3):710. doi: 10.3390/ani11030710. PMC8001186.
 80. Sathyanarayana Rao, T.S. et Yeragani, V.K. (2009). Hypertensive crisis and cheese. *Indian Journal of Psychiatry*, 51(1), 65–66. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2745902/>
 81. Saxena, R. (2023). Exploring approaches for investigating phytochemistry: methods and techniques. *medalion journal: Medical Research, Nursing, Health and Midwife Participation*, 4(2), 65-73. <https://doi.org/10.59733/medalion.v4i2.76>.
 82. Sayed Kutub Ali A., Shaikh S., Goswami P. & Cordeiro A. (2025). Formulation and Evaluation of Gummies for Cough. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 10(2), 1264-1269.
 83. Schweizer, M. C., Henniger, M. S. H., & Sillaber, I. (2009). Chronic mild stress (CMS) in mice: Of anhedonia, “anomalous anxiolysis” and activity. *PLoS ONE*, 4(1), e4326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004326>
 84. Segerstrom, S.C. et Miller, G.E. (2004). Psychological stress and the human immune system : a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychological Bulletin*, 130(4), 601–630. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15200533/>
 85. Sekkal-taleb, N., Senouci, F. Z., & Medjahdi, G. (2021). Etude des propriétés antimicrobiennes, antifongiques et cicatrisantes du Kéfir. *Nutrition & Santé*, 10(2), 96-101.
 86. Shaffi Manchanda and Gurcharan Kaur, (2017) *Withanai somnifera* leaf alleviates cognitive dysfunction by enhancing hippocampal plasticity in high fat diet induced obesity model.,p11_12, DOI 10.1186/s12906-017-1652-0
 87. Softigel by Procaps (2017). Fun-Triton with GummyGels — Product & Technology Brochure. Édition II. Bogotá, Colombia.
 88. Stahl, S. M. (2021). Stahl’s essential psychopharmacology: Neuroscientific basis and practical applications (5th ed). [cambridge.org.366-367 https://doi.org/10.1017/9781108975292](https://doi.org/10.1017/9781108975292)
 89. Strekalova, T., Spanagel, R., Bartsch, D., Henn, F. A., & Gass, P. (2004). Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology*, 29(11), 2007–2017. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300532>

90. Ströhle, A., Gensichen, J., & Domschke, K. (2018). The diagnosis and treatment of anxiety disorders. *Deutsches Ärzteblatt International*, 115(37), 619–620. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2018.0611>.
91. Tapia-Osorio, A., Salgado-Delgado, R., Angeles-Castellanos, M. et Escobar, C. (2013). Disruption of circadian rhythms due to chronic constant light leads to depressive and anxiety-like behaviors in the rat. *Behavioural Brain Research*, 252, 1–9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23714074/>
92. Tarahi, M., Tahmouzi, S., Kianiani, M.R., Ezzati, S., Hedayati, S. et Niakousari, M. (2024). Current Innovations in the Development of Functional Gummy Candies. *Foods*, 13(1), 76. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10778822/>
93. Wagner, C.L., Shary, J.R., Nietert, P.J., Wahlquist, A.E., Ebeling, M.D. et Hollis, B.W. (2019). Bioequivalence Studies of Vitamin D Gummies and Tablets in Healthy Adults : Results of a Cross-Over Study. *Nutrients*, 11(5), 1023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6566230/>
94. Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, 2, 322–328.
95. Waraczewski R., Muszynski S. & Solowiej B.G. (2022). An Analysis of the Plant- and Animal-Based Hydrocolloids as Byproducts of the Food Industry. *Molecules*, 27(24), 8686.
96. Wiciński, M., Fajkiel-Madajczyk, A., Sławatycki, J., Szambelan, M., Szyperski, P., Wojciechowski, P., ... & Gawryjolek, M. (2025). Ashwagandha (*Withanai somnifera*) and its effects on well-being—a review. *Nutrients*, 17(13), 2143.
97. Wideman, C. H., & Murphy, H. M. (2009). *Constant light induces alterations in melatonin levels, food intake, feed efficiency, visceral adiposity, and circadian rhythms in rats. Nutritional Neuroscience*, 12(5), 233–240. <https://doi.org/10.1179/147683009X423436>
98. Yehuda, R., & McFarlane, A. C. (2024). Posttraumatic stress disorder. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559129>
99. Yun-Lei Dai, Ying Li, Qi Wang, Feng-Jv Niu, Kun-Wei Li, Yun-Yu Wang, Jian Wang, Chang-Zheng Zhou, & Li-Na Gao. (2023). Chamomile: A Review of Its Traditional Uses, Chemical Constituents, Pharmacological Activities and Quality Control Studies. *Molecules*, 28(1), 133. <https://doi.org/10.3390/molecules28010133>.

100. Zahiruddin, S., Basist, P., Parveen, A., Parveen, R., Khan, W., & Ahmad, S. (2020). Ashwagandha in brain disorders: A review of recent developments. *Journal of ethnopharmacology*, 257, 112876.
101. Zebdi, R., & Lignier, B. (2017). Anxiété de séparation et refus scolaire anxieux chez l'enfant : étude de cas. *Journal de Thérapie Comportementale et Cognitive*, 27(4), 2-3. <https://doi.org/10.1016/j.jtcc.2017.06.001>
102. Zhou L. & Foster J.A. (2015). Psychobiotics and the gut-brain axis: in the pursuit of happiness. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 715-723.
103. إبراهيم، عبد الستار. (2002). القلق: قيود من الوهم. القاهرة: مكتبة الأنجلو المصرية. رقم الإيداع: 2847/2002. ISBN: 977-05-1894-8
104. نورالدين، زعتر. (2010). سلسلة الأمراض النفسية (ج 01). الجزائر. (ص. 19).

Annexes



Annexe A : Produits et équipements

Tableau 01 : Liste des substances chimiques et biochimiques utilisées dans notre étude.

Produits	Forme	Forme chimique
Méthanol	Liquide	CH ₃ OH
Eau distillée	Liquide	/
Acide sulfurique	Liquide	H ₂ SO ₄
Irontrichloride (chlorure ferrique)	Liquide	FeCl ₃
Liqueur de Fehling	Liquide	/
Acide chlorhydrique	Liquide	Hcl
Chloroforme	Liquide	CHCl ₃
Wagner réactive liquide	Liquide	/
Quercétine	Poudre	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
Catéchine	Poudre	C ₁₅ H ₁₄ O ₆
Folin Ciocalteu (10%)	Poudre	/
Chlorure d'aluminium (trichlorure d'aluminium) (2%)	Poudre	AlCl ₃
Vanilline (4%)	Poudre	C ₈ H ₈ O ₃
Acide ascorbique	Poudre	C ₆ H ₈ O ₆
DPPH	Poudre	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆
Tampon phosphate salin (PBS) (C =0.2; PH=6.6)	Liquide	/
Acide Trichloracétique TCA (10%)	Poudre	C ₂ HCL ₃ O ₂
Le chlorure de fer (0.1%)	Poudre	FeCl ₃
Chlorure de sodium	Poudre	Nacl
Hydroxyde de sodium	Poudre	NaoH
Mueller – Hinton	Poudre	/
Acide gallique	Poudre	C ₇ H ₆ O ₅

Equipment de laboratoire

Balance de précision, spectromètre, autoclave, centrifugeuse, hotte, étuve, rotavapeur de type Buchi R-200, agitateur vortex, bain ultrasonique, plaque chauffante, bec Bunsen, bec benzène, réfrigérateur, mortier et pilon, papier filtre, entonnoir, micropipette, embout de micropipette, tube à essai, porte-tubes à essai, erlenmeyer, bécher, éprouvette graduée, cuve de spectromètre, bouteilles en verre, cristalliseur, pissette, boîte de Pétri, anse de platine, écouvillon stérile, disques vides stériles, pince stérilisée, pipettes Pasteur stériles, tube de culture à vis, seringue, spatule cuillère et passoire.

Annexe B :Préparation de l'extrait végétal



Figure 1: Préparation du matériel végétal pour l'extraction

Annexe C : Tests phytochimique



Figure 2 : Résultats de la détection de l'extrait de plante *Withania somnifera*.

Annexe D: Test antibactérienne

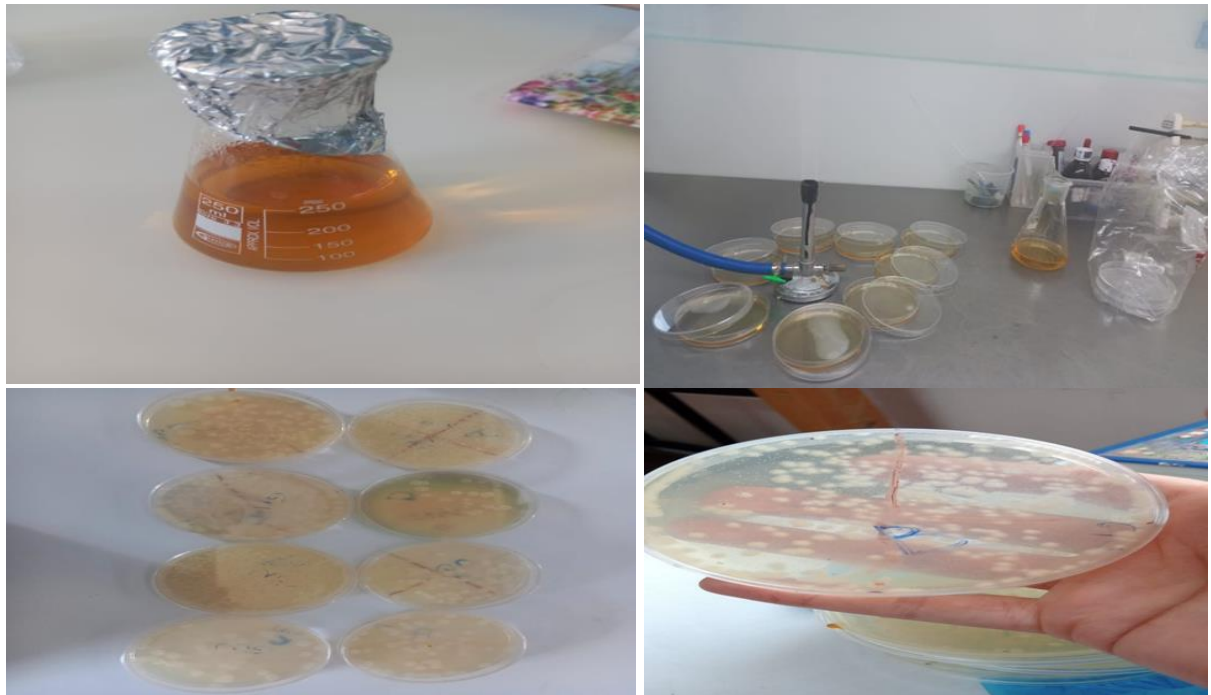


Figure 03: Étapes pour réalisation des tests antibactérienne.

Annexe D : Matériel animale



Figure 04 : Souris de laboratoire utilisées dans l'étude

Annexe E : Etude comportementaux



Figure 05: Dispositif utilisé dans le test de labyrinthe



Figure 06: Dispositif utilisé dans le nage force.

Annexe F : Sacrifice des souris et prélèvement du sang



Figure 07 : Étapes de prélèvement du sang