



REPUBLIQUE ALGRIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Université ABOUBEKR BELKAID –TLEMCEM

جامعة أبي بكر بلقايد – تلمسان



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Département d'écologie et environnement

MÉMOIRE

De fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master Professionnel

En

Toxicologie industrielle et environnementale

Présenté par :

TANI YOUSFI Fethi

BENABDELLAH Mohammed

Thème :

Etude d'éventuelle toxicité d'un ligand base Schiff et ses complexes métalliques

Présidente	Mme BENGUEDDA W.	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme BOUAYAD S.	MCB	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme MEDJDOUB H.	MCA	Université de Tlemcen
Co-encadreur	Mme CHIBOUB FELLAH FZ.	Professeur	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2025/2026

Remerciement

Au terme de ce travail de recherche, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Nous adressons nos plus vifs remerciements à Madame MEDJDOUB H., Maître de Conférences A à la faculté SNV-STU, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, pour avoir accepté de nous encadrer avec bienveillance et rigueur. Sa disponibilité, ses précieux conseils et ses orientations scientifiques nous ont été d'une aide inestimable tout au long de ce projet.

Qu'elle trouve ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Madame CHIBOUB FELLAH F.Z., Professeur à la Faculté des Sciences de l'Université de Tlemcen, pour son encadrement précieux, ses conseils avisés, ainsi que pour la confiance qu'elle nous a témoignée tout au long de ce travail.

Nous sommes également très honorés de la présence de Madame BENGUEDDA W., Professeur à l'Université de Tlemcen, qui nous fait l'honneur de présider le jury de soutenance et participer activement à notre formation. Nous lui adressons nos plus respectueux remerciements.

Nos remerciements s'adressent également à Madame BOUAYAD S., Maître de Conférences B, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Nous lui sommes reconnaissants de l'intérêt qu'elle a porté à notre recherche et à la formation Toxicologie industrielle et environnementale.

Nous remercions également l'ensemble des enseignants du Département d'Ecologie et Environnement, ainsi que tous les professeurs qui ont participé à notre formation depuis nos premières années d'études jusqu'à aujourd'hui. Leurs enseignements et leur dévouement ont forgé notre parcours académique.

Nos remerciements s'adressent à Monsieur MERDJI H., responsable au sein de l'animalerie de la Faculté SNV-STU, pour ses précieux conseils et son orientations pendant la réalisation de l'étude *in vivo*.

Nous remercions également Mademoiselle BENATIA FZ., doctorante à la faculté SNV-STU, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen, pour son soutien durant la réalisation de ce travail.

"Nous adressons nos sincères remerciements à Mesdames SERIR F. et BELEDGHAM R., ingénieures au Laboratoire d'Analyse Physico-Chimique des Systèmes Biologiques et Alimentaires (LAPSAB), pour leur disponibilité, leur aide précieuse et leur soutien technique tout au long de la réalisation de ce travail."

Enfin, nous tenons à adresser nos sincères remerciements à nos familles pour leur soutien indéfectible, leurs encouragements constants et leur patience tout au long de ces années. Nous remercions également nos amis et camarades de promotion pour leur solidarité et leur aide précieuse.

Dédicaces

C'est avec une profonde émotion et une immense gratitude que je dédie ce mémoire à celles et ceux qui ont marqué mon parcours personnel et académique.

À mes chers parents, pour leur soutien indéfectible, leurs sacrifices et leur amour tout au long de mon parcours universitaire. Ce travail est le fruit de vos efforts et le reflet de votre confiance en moi.

À ma famille et mes amis, pour leur présence constante, leur écoute et les moments de partage qui ont rendu ces années d'études si précieuses. Merci d'avoir toujours été là pour m'encourager.

À mon encadrante, pour sa précieuse orientation, sa rigueur scientifique et la confiance qu'elle m'a accordée. Ses conseils avisés ont été le moteur de la réussite de ce travail de recherche.

Enfin, je dédie ce travail à tous ceux qui croient en la valeur du savoir, de la persévérance et de l'excellence, avec l'espoir que cette contribution puisse enrichir, même modestement, le domaine de la recherche scientifique.

À tous, j'exprime mon profond respect, ma gratitude et ma sincère reconnaissance.

Fethi

Dédicaces

C'est avec une profonde émotion et une immense gratitude que je dédie ce mémoire à celles et ceux qui ont marqué mon parcours personnel et académique.

À mes parents, pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices et leur confiance qui m'ont porté tout au long de ce parcours.

À mon encadrante, pour sa disponibilité, ses précieux conseils et la rigueur qu'il m'a transmise.

À ma famille et mes amis, pour leurs encouragements et leur soutien moral dans les moments de doute.

À tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

Merci.

À mes amis et à toutes les personnes qui m'ont accompagnée, encouragée et soutenue de près ou de loin durant la réalisation de ce mémoire.

Enfin, je dédie ce travail à tous ceux qui croient en la valeur du savoir, de la persévérance et de l'excellence, avec l'espoir que cette contribution puisse enrichir, même modestement, le domaine de la recherche scientifique.

À tous, j'exprime mon profond respect, ma gratitude et ma sincère reconnaissance.

Mohammed

ملخص

تُعد قواعد شيف ومعقداتها المعدنية مركبات ذات أهمية علاجية كبيرة، إلا أن تقييمها السمي قبل السريري يظل خطوة حاسمة قبل أي تطبيق سريري. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم السمية المحتملة لليكاند من قواعد شيف ومعقداته من النحاس والزنك. ولتحقيق ذلك، تم إجراء مجموعة من الاختبارات شملت دراسات السمية الحادة والمزمنة داخل الجسم (*in vivo*) على جرذان من سلالة ويستار، بالإضافة إلى اختبار التحلل الدموي خارج الجسم (*in vitro*) على خلايا الدم الحمراء البشرية.

لم يؤد إعطاء جرعات مفردة (500 ملغ/كلغ) لتقييم السمية الحادة وجرعات متكررة (100 ملغ/كلغ) لتقييم السمية المزمنة إلى حدوث أي وفيات، أو علامات سمية، أو تغيرات ملحوظة في وزن الجسم أو مستوى السكر في الدم لدى الجرذان المعالجة. علاوة على ذلك، أظهرت اختبارات التحلل الدموي توافقاً حيوياً ممتازاً للمركبات الثلاثة مع أغشية الكريات الحمراء، مع قيم IC_{50} مرتفعة جداً، تتجاوز 15 ملغ/مل لليكاند، و45 ملغ/مل لمعقد الزنك، و233 ملغ/مل لمعقد النحاس. تشير نتائجنا إلى أن الليكاند ومعقداته المعدنية تظهر ملف سمية منخفضاً جداً في ظل الظروف التجريبية التي تم اختبارها. إن هذا الغياب للسمية الحادة، والمزمنة، والتحليلية يوحي بأن هذه الجزيئات قد تشكل مرشحات واعدة للتطوير العلاجي في المستقبل.

الكلمات المفتاحية: قواعد شيف، معقدات النحاس المعدنية، معقدات الزنك المعدنية، السمية الحادة، السمية المزمنة، التحلل الدموي.

Résumé :

Les bases de Schiff et leurs complexes métalliques sont des composés d'un grand intérêt thérapeutique, mais leur évaluation toxicologique préclinique reste une étape cruciale avant toute application clinique. La présente étude vise à évaluer la toxicité potentielle d'un ligand base de Schiff et de ses complexes de cuivre et de zinc. Pour ce faire, un ensemble de tests a été réalisée, incluant des études de toxicité aiguë et chronique *in vivo* sur des rats Wistar, ainsi qu'un test d'hémolyse *in vitro* sur des globules rouges humains.

L'administration de doses uniques (500 mg/kg) pour la toxicité aiguë et répétées (100 mg/kg) pour la toxicité chronique n'a provoqué aucune mortalité, ni signe de toxicité, ni modification significative du poids corporel ou de la glycémie chez les rats traités. Par ailleurs, les tests d'hémolyse ont montré une excellente biocompatibilité des trois composés avec les membranes érythrocytaires, avec des CI50 très élevées, dépassant 15 mg/mL pour le ligand, 45 mg/mL pour le complexe de zinc et 233 mg/mL pour le complexe de cuivre. Nos résultats indiquent que le ligand et ses complexes métalliques présentent un profil de toxicité très faible dans les conditions expérimentales testées.

Cette absence de toxicité aiguë, chronique et hémolytique suggère que ces molécules pourraient constituer des candidats prometteurs pour un développement thérapeutique futur.

Mots clés : Bases de Schiff, complexes métalliques de cuivre, complexes métalliques de zinc, toxicité aiguë, toxicité chronique, hémolyse.

Abstract

Schiff bases and their metal complexes are compounds of great therapeutic interest, but their preclinical toxicological evaluation remains a crucial step before any clinical application. The present study aims to evaluate the potential toxicity of a Schiff base ligand and its copper and zinc complexes. To achieve this, a battery of tests was carried out, including *in vivo* acute and chronic toxicity studies on Wistar rats, as well as an *in vitro* hemolysis test on human red blood cells.

The administration of single doses (500 mg/kg) for acute toxicity and repeated doses (100 mg/kg) for chronic toxicity caused no mortality, signs of toxicity, or significant changes in body weight or blood glucose levels in the treated rats. Furthermore, hemolysis tests showed excellent biocompatibility of the three compounds with erythrocyte membranes, with very high IC₅₀ values exceeding 15 mg/mL for the ligand, 45 mg/mL for the zinc complex, and 233 mg/mL for the copper complex.

Our results indicate that the ligand and its metal complexes exhibit a very low toxicity profile under the tested experimental conditions. This absence of acute, chronic, and hemolytic toxicity suggests that these molecules could be promising candidates for future therapeutic development.

Keywords: Schiff bases, copper metal complexes, zinc metal complexes, acute toxicity, chronic toxicity, hemolysis.

Liste des figures

Figure 1:Détermination de la dose létale 50 (DL 50) (Notion de la toxicologie, cnesst)	7
Figure 2:Réaction générale de la formation d'une base de Schiff (R, R' et R" = alkyle ou aryle).....	15
Figure 3:Différents types de bases de Schiff.....	17
Figure 4:Exemple des complexes mononucléaires, binucléaires et trinucléaires.	18
Figure 5: ligand de base de Schiff et leurs complexes de cuivre et de zinc (De droite à gauche)	33
Figure 6: Rats Wistar.....	34
Figure 7: solutions préparées pour le gavage gastrique (Complexe de Zinc, Complexe de Cuivre et ligand).....	35
Figure 8 : Evolution du poids des rats par moyenne en g durant la période d'étude	40
Figure 9: Glycémie des rats durant la période d'étude.....	41
Figure 10:Evolution du poids des rats en gram durant la période d'étude.....	42
Figure 11:Effet des molécules testées sur la glycémie des rats.....	43
Figure 12: Variations des pourcentages d'hémolyse en fonction de concentration du ligand .	44
Figure 13: Variations des pourcentages d'hémolyse en fonction de concentration du zinc	45
Figure 14: Variations des pourcentages d'hémolyse en fonction de concentration du cuivre .	46

Liste des tableaux

Tableau 1:La mortalité âpres une dose unique de la molécule	40
Tableau 2:La mortalité âpres une dose répété de la molécule.....	42

Table des matières

Introduction générale.....	1
Étude bibliographique	3
Chapitre 1 :	4
Généralité sur la toxicologie.....	4
1. Définition de la toxicologie :	5
2.Facteurs influençant la toxicité :	5
3.La relation entre dose effet et dose réponse :	6
3.1.La relation dose effet :	6
3.2.La relation dose reponse :	6
4.Les types d'étude de la toxicité :	6
4.1.Toxicité aiguë :	6
4.2 Toxicité subaiguë :	7
4.3 Toxicité subchronique :	7
4.4 Toxicité chronique :	8
5.La toxicocinetique :	8
5.1définition :	8
5.2Le devenir métabolique des toxiques (ADME):.....	8
5.2.1 Absorption :	8
5.2.2 Distribution.....	10
5.2.3. La Métabolisation :	10
5.2.4. Élimination	11
6.les Organes cibles des toxiques:	12
7.Méthodologie des tests en toxicologie:	13
7.1 Tests <i>in vitro</i> :	13
7.2 Tests <i>in vivo</i>	13
Chapitre 2 : Généralité sur ligand bases schiff et leur complexes métallique	14
1. Généralité sur les bases de Schiff et leurs complexes métalliques.....	15
1.1 Les bases de schiff	15
1.2. Ligand de base de schiff :	16
1.2.1 Définition.....	16
1.2.2 Classification des ligands bases de Schiff	16
1.3. Les complexes de base de schiff	18

1.3.1 Définition :	18
1.3.2 Application complexes de base de schiff	19
2.La toxicité d'un ligand et des complexes bases schiff :	20
2.1.Toxicité aiguë <i>in vivo</i> :	20
2.1.1 ligands bases de schiff :.....	20
2.1.2 complexes de cuivre (Cu) :.....	20
2.1.3 complexes de nickel (Ni) :.....	21
2.1.4 complexes de zinc (Zn) :	21
2.1.5 complexes de Cadmium (Cd) :.....	22
2.2. Toxicité chronique <i>in vivo</i> :.....	22
2.2.1 ligands bases de schiff :.....	22
2.2.2 complexes de cuivre (cu) :.....	23
2.2.3 complexes de nickel (Ni) :.....	24
2.2.4 complexes de zinc (Zn) :	24
2.2.5 complexes de Cadmium (Cd) :.....	25
2.3.Toxicité <i>in vitro</i> :.....	25
2.3.1 Les ligands bases de schiff :.....	25
2.3.2complexes de cuivre (cu) :.....	26
2.3.3 complexes de zinc (Zn) :	27
3.1 ligands bases de schiff :.....	27
3.2. complexes de zinc (Zn):	28
3.3. Complexes de cuivre (cu) :.....	29
4.Le mécanisme d'action.....	29
4.1 Ligands bases de schiff :.....	29
4.2. Complexes de zinc (Zn) :	30
4.3. Complexes de cuivre (cu) :.....	30
Étude Expérimentale	31
Matériel et méthode Partie <i>in vivo</i>	32
1.Matériel chimique :	33
2 matériel animal :.....	33
3.Évaluation de la toxicité aiguë:	34
4.Évaluationde la toxicité chronique :	35

2. Matériel chimique utilisé :	37
3. Principe de l'effet hémolytique :	37
3.1.1. Préparation du culot (suspension érythrocytaire GRH) :	37
3.1.2 Évaluation de l'activité hémolytique (fuite de l'hémoglobine) :	37
3.2. Préparation des solutions :	38
3.2.1. Préparation de PBS (Phosphate buffered saline) :	38
3.3. Préparation de l'échantillon :	38
3.3.1. Le ligand :	37
3.3.2. le complexe de cuivre :	37
3.3.2. le complexe de zinc :	38
Résultats et discussion	39
1. Résultats:	40
1.1 Évaluation de la toxicité aiguë in vivo:	40
1.2 Évaluation de la toxicité chronique in vivo:	42
1.3 L'étude de l'activité hémolytique (<i>in vitro</i>) :	44
1.3.1 Ligand :	44
1.3.2. Complexe de zinc :	45
1.3.3. Complexe de cuivre :	45
2. Discussion:	46
2.1. Activité hémolytique	46
2.2. Toxicité aiguë in vivo	47
2.3. Toxicité chronique	47
2.4. Limites et perspectives	48
Conclusion générale	49
Références bibliographiques	51

Introduction générale

Les bases de Schiff, également appelées imines ou azométhines, sont des composés organiques obtenus par condensation d'une amine primaire avec un aldéhyde ou une cétone. Elles sont reconnues pour leur grande flexibilité structurale et leur capacité à former des complexes stables avec une large gamme d'ions métalliques **(El-Khateeb, 2020)**. Dans l'ensemble, la synthèse facile, les rendements élevés et la diversité des substituants permettent de moduler leurs propriétés physicochimiques et biologiques, ouvrant ainsi la voie à des applications prometteuses en médecine, en pharmacie et en chimie analytique **(Ahsan, 2022)**.

La chimie de coordination des bases de Schiff avec des métaux de transition, notamment le cuivre (Cu) et le zinc (Zn), constitue un domaine de recherche en plein essor. Ces complexes métalliques présentent souvent une activité biologique supérieure à celle du ligand libre, en raison d'une meilleure lipophilie, d'une interaction facilitée avec les biomolécules et d'une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) **(Yeh & Lim, 2007)**. De nombreuses études ont mis en évidence leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antioxydantes et gastroprotectrices **(Hamilton, 1991) (Jain & Shalini, 2015)**.

Bien que les bases de Schiff et leurs complexes présentent de nombreux avantages thérapeutiques, des défis tels que la toxicité potentielle sur les cellules saines, les effets secondaires hépatiques et rénaux, ainsi que la nécessité d'études *in vivo* approfondies restent essentiels avant toute application clinique.

Avec ce contexte, nous avons cherché à répondre à la problématique suivante :

Peut-on considérer les bases de Schiff et leurs complexes métalliques (Cu et Zn) comme des composés toxiques ou non ? Et quel est l'effet de ces dérivés sur la glycémie, le poids et les hématies ?

Pour tenter d'apporter des éléments de réponse, nous avons réalisé une étude de toxicité sur un ligand base de Schiff, son complexe de cuivre (Cu) et son complexe de zinc (Zn). Cela a fait l'objet de :

- Étude de toxicité aiguë *in vivo* (dose unique)
- Étude de toxicité chronique *in vivo* (doses répétées)
- Étude de toxicité *in vitro* : test d'hémolyse sur globules rouges humains

Ce mémoire comporte deux grandes parties :

- Une étude bibliographique sur la toxicologie et les bases de Schiff, leurs complexes et leur toxicité.
- Une étude expérimentale détaillant les tests de toxicité aiguë, chronique et hémolytique, suivie des résultats et de leur discussion

Étude bibliographique

Chapitre 1 :

Généralités sur la toxicologie

1. Définition de la toxicologie :

La toxicologie est la science qui étudie les effets néfastes des substances chimiques sur les organismes vivants. Historiquement associée à l'étude des poisons, elle s'intéresse aujourd'hui à tous les domaines où l'homme peut être exposé à des produits dangereux, notamment l'agriculture, l'alimentation, l'industrie pharmaceutique, l'environnement et le monde du travail.

Un poison, également appelé substance toxique, se définit comme toute substance capable de perturber le fonctionnement normal d'un être vivant. Il peut être d'origine naturelle ou synthétique, et de nature chimique ou biologique. Le risque de toxicité d'une substance ne dépend pas seulement de sa nature, mais aussi des conditions dans lesquelles elle est administrée, comme l'espèce animale concernée, la voie d'exposition, ou encore le sexe de l'individu. Des paramètres tels que la DL50 ou la CL50 permettent d'évaluer ce risque.

(Polycopie, 2021)

Le xénobiotique est une substance présente dans l'organisme mais qui lui est étrangère, c'est une molécule étrangère non produite par l'organisme lui-même, présente dans le corps ou les tissus d'un organisme vivant. Les xénobiotiques sont toxiques et surtout utilisés dans les domaines agricoles et industriels. Les médicaments, les pesticides et les additifs alimentaires sont les xénobiotiques les plus répandus **(Duffus & Thomas, 2014) (Baud et Garnier, 2017)**.

2. Facteurs influençant la toxicité :

La toxicité d'un xénobiotique dépend de la dose du toxique, de la durée d'exposition, des facteurs environnementaux, des facteurs physiologiques et pathologiques de l'organisme. On peut les regrouper dans deux types de facteurs : les facteurs génétiques et les facteurs physiopathologiques. En effet, la population humaine est un groupe hétérogène au sein duquel il existe une grande variabilité entre les individus. Les facteurs génétiques héréditaires influencent la sensibilité individuelle aux xénobiotiques. Les facteurs physiopathologiques incluent l'âge, car la sensibilité aux effets toxiques est habituellement plus grande chez les nouveau-nés, les enfants et les personnes âgées. Le sexe joue également un rôle car il existe des différences entre les hommes et les femmes dans le métabolisme des xénobiotiques. L'état nutritionnel influence la toxicité, qui peut être affectée par la masse du tissu adipeux, la déshydratation et la carence en vitamines. La grossesse entraîne des modifications de l'activité métabolique.

L'état de santé est important car les individus en bonne santé sont plus résistants, ils métabolisent et éliminent les toxiques plus rapidement que ceux qui souffrent de pathologies, notamment les pathologies hépatiques ou rénales (**Frank, 1991; Klaassen et al., 2013**).

3. La relation entre dose effet et dose réponse :

3.1. La relation dose effet :

La relation dose-effet décrit le lien entre la quantité d'une substance administrée et l'intensité de l'effet observé chez un individu. En général, plus la dose augmente, plus l'effet toxique tend à s'aggraver ou à s'intensifier. Cette relation peut être étudiée à différents niveaux : organisme entier, cellule spécifique ou molécule cible. Il est important de noter que certains effets toxiques, comme la mort ou le développement d'un cancer, ne suivent pas une progression graduelle.

3.2. La relation dose réponse :

La relation dose-réponse correspond au lien entre la quantité d'une substance administrée et la proportion d'individus, au sein d'une population donnée, qui manifestent un effet particulier. Concrètement, plus la dose augmente, plus le nombre de personnes touchées par cet effet s'élève. Autrement dit, l'accroissement de la dose entraîne une hausse du pourcentage d'individus affectés au sein de la population exposée.

4. Les types d'étude de la toxicité :

4.1. Toxicité aiguë :

La toxicité aiguë correspond aux effets néfastes qui surviennent rapidement, voire immédiatement, après une exposition unique ou après plusieurs prises très rapprochées d'une substance. La durée d'exposition est généralement inférieure à 24 heures. Cette forme de toxicité repose sur l'analyse qualitative et quantitative des effets indésirables observés suite à l'administration unique d'une substance active (**Ruckebusch, 1981**). En pratique, les symptômes apparaissent soit immédiatement, soit dans les premiers jours suivant l'exposition (**Hodgson, 2010**). Le concept de toxicité orale aiguë est étroitement lié à la mesure de la létalité et à la détermination de la DL50.

Cette dernière représente la dose statistiquement calculée qui entraîne la mort de 50 % des animaux traités dans des conditions expérimentales définies (**Oliver, 1986**). Généralement, le produit est administré à des rats ou des souris répartis en plusieurs groupes recevant des doses croissantes, de manière à obtenir une mortalité variant de 0 % à 100 %. Lorsque le toxique est inhalé, on utilise le terme de concentration létale médiane (CL50), qui désigne la concentration du toxique dans l'air absorbé provoquant la mort de la moitié des animaux exposés (**CNESST, 2023**).

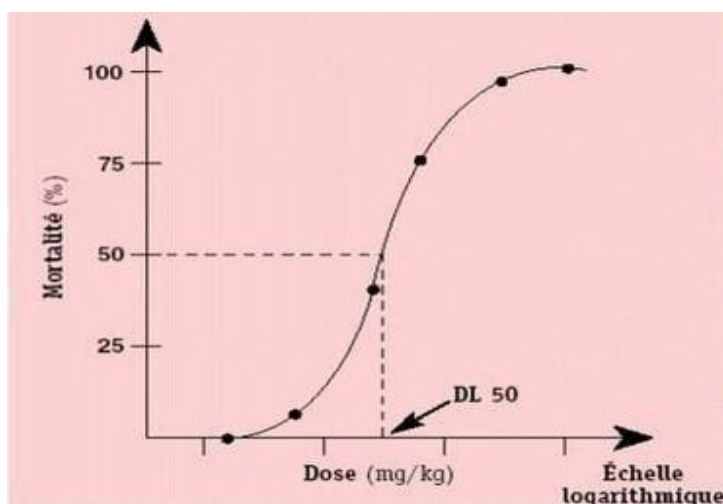


Figure 1: Détermination de la dose létale 50 (DL 50) (Notion de la toxicologie, cnesst)

4.2 Toxicité subaiguë :

La toxicité subaiguë résulte de l'absorption répétée d'un xénobiotique sur une période n'excédant pas trois mois (90 jours) chez l'animal. Les doses administrées sont relativement élevées, mais restent insuffisantes pour provoquer des effets toxiques après une seule prise.

La durée d'exposition typique est d'environ un mois (≤ 30 jours) (**Dermeche, 2023**).

4.3 Toxicité subchronique :

La toxicité subchronique correspond à une exposition prolongée des animaux à une substance testée, généralement sur une durée de 28 à 90 jours. L'exposition est fréquente, souvent quotidienne. Ce type d'étude permet d'identifier les organes cibles susceptibles d'être affectés par le composé ainsi que les principaux effets toxiques associés (**Boulila & Iratni, 2021**).

4.4 Toxicité chronique :

Une intoxication est qualifiée de chronique lorsque ses manifestations apparaissent après une exposition soutenue ou répétée sur une longue période, généralement supérieure à trois mois. Elle peut également résulter de l'accumulation progressive du toxique dans l'organisme, jusqu'à ce que sa concentration atteigne un seuil critique au niveau de l'organe cible (**Boulila & Iratni, 2021**).

Il est important de souligner que les effets toxiques, qu'ils soient aigus ou chroniques, peuvent être réversibles ou irréversibles, et plus ou moins sévères. Par ailleurs, la nature de l'exposition (définie par sa durée) doit être distinguée de la nature et de la gravité de l'effet produit. Une exposition de courte durée (aiguë) peut ainsi entraîner des conséquences à long terme (chroniques) (**Noisel et al., 2023**).

5. La toxicocinétique:

5.1 définition:

La toxicocinétique est l'étude du devenir d'une substance toxique dans l'organisme après son administration. Elle s'intéresse à l'influence que l'organisme exerce sur le xénobiotique et analyse les processus d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion d'un xénobiotique, afin de comprendre son acheminement et d'évaluer les risques associés à son exposition. L'objectif principal de la toxicocinétique est de déterminer les concentrations de la substance ou de ses métabolites dans les différents compartiments biologiques au cours du temps, permettant ainsi d'établir une relation entre la dose administrée et l'effet toxique observé (**Flesch et al., 2016**).

5.2 Le devenir métabolique des toxiques (ADME):

5.2.1 Absorption :

L'absorption est le processus par lequel les xénobiotiques pénètrent dans l'organisme pour atteindre la circulation sanguine générale après avoir traversé les membranes et la barrière biologique. Les principales voies de pénétration sont les poumons, la peau et le tractus gastrointestinal. À l'exception d'effets locaux au site de pénétration, un xénobiotique n'est capable de provoquer des lésions que s'il est absorbé par l'organisme à travers la peau, le tube digestif, les poumons et d'autres voies minoritaires (**Baud et Garnier, 2017**).

Absorption par voie cutanée:

La peau est assez imperméable, elle constitue une barrière de séparation entre l'organisme et le milieu externe. Néanmoins, quelques substances possèdent la capacité de franchir cette barrière. Certaines substances peuvent passer via les follicules pileux, les cellules des glandes sudoripares ou sébacées. Les xénobiotiques peuvent pénétrer à travers la peau par une diffusion passive pour les molécules ionisées ou de faible poids moléculaire inférieur ou égal à 400 daltons. La peau contient la couche cornée, le stratum corneum, riche en lipoprotéines et en cellules mortes dépourvues de noyaux, qui est un film protecteur peu perméable.

Absorption par voie respiratoire :

L'absorption par voie respiratoire se fait au niveau des alvéoles pulmonaires qui sont le principal site de pénétration par cette voie. Les xénobiotiques gazeux, les substances liquides et même solides possédant une tension de vapeur appréciable ou capables d'être dispersées sous forme de particules de taille suffisamment petite, comme les aérosols, les fumées et les microbrouillards, pénètrent jusqu'aux ramifications les plus fines de l'arbre pulmonaire, c'est-à-dire les alvéoles. Ces xénobiotiques traversent l'épithélium pulmonaire pour arriver à la circulation sanguine.

Les mécanismes des échanges gazeux se font selon les différences de pression. Les particules diffusent du plus concentré vers le moins concentré. Au niveau des alvéoles, l'absorption est importante en raison de leur surface considérable, du débit sanguin élevé et de la proximité du sang et de l'air alvéolaire. Par ailleurs, la solubilité a une grande importance dans l'absorption par cette voie.

Absorption par voie gastro-intestinale

L'absorption par voie gastro-intestinale est le processus par lequel une substance, qu'elle soit nutritive, médicamenteuse ou toxique, traverse la paroi des muqueuses du tube digestif pour atteindre la circulation sanguine. Ce mécanisme dépend de plusieurs facteurs, notamment les propriétés physicochimiques du xénobiotique, les caractéristiques de la muqueuse gastrointestinale et les conditions physiologiques locales (**Frank, 1991**)

5.2.2 Distribution

Après le passage des xénobiotiques dans la circulation sanguine, ils seront distribués. Il s'agit d'un processus selon lequel les xénobiotiques absorbés ou leurs métabolites se répartissent dans les différents tissus et organes de l'organisme. Ce phénomène dépend de plusieurs facteurs liés à la nature du xénobiotique, aux caractéristiques biologiques de l'organisme et aux propriétés physiologiques des tissus. Les Facteurs influençant la distribution :

- Les propriétés physicochimiques du xénobiotique influencent sa distribution.
- Le débit sanguin des tissus est un facteur déterminant.
- Les barrières biologiques constituent également un facteur important, principalement la barrière hémato-encéphalique et la barrière hémato-placentaire.
- La liaison aux protéines plasmatiques est un autre facteur important.
- L'affinité des xénobiotiques pour les protéines tissulaires, Certains xénobiotiques se fixent préférentiellement dans certains organes et montrent une affinité particulière pour des tissus spécifiques (**Frank, 1991 ; Klaassen et al, 2013**).

5.2.3. La Métabolisation:

Une fois que le xénobiotique pénètre dans la cellule, il sera immédiatement pris en charge. Deux mécanismes sont impliqués: les pompes à efflux et les enzymes du métabolisme des xénobiotiques (**Fromenty, 2010**). Les pompes à efflux constituent un mécanisme de transport actif par lequel les cellules rejettent à l'extérieur des composés toxiques, comme les antibiotiques, les métaux lourds et les drogues.

Les enzymes du métabolisme des xénobiotiques :

Le métabolisme des Xénobiotiques désigne l'ensemble des processus par lesquels un organisme transforme des composés étrangers, comme les médicaments, les polluants et les toxines, afin de les rendre plus hydrosolubles, moins toxiques et plus facilement éliminables. Ce métabolisme se déroule principalement dans le foie et peut être divisé en deux grandes phases, la phase I et la phase II, et une dernière phase d'élimination. Ce sont des enzymes qui modifient les xénobiotiques de façon à les rendre moins actifs et exportables hors de la cellule. C'est un mécanisme complexe qui permet la protection de l'organisme. Trois phases sont impliquées au cours du métabolisme des xénobiotiques (**Fromenty, 2010 ; Klaassen et al., 2013**).

5.2.4. Élimination

L'élimination est un phénomène au cours duquel il y aura une épuration de l'organisme des métabolites des xénobiotiques. Il existe plusieurs voies d'élimination.

Élimination rénale :

Cette voie d'élimination est prépondérante. Elle est basée sur les processus physiologiques utilisés pour l'élimination des substances endogènes, les déchets de l'organisme. Cette voie s'effectue en trois étapes : la filtration glomérulaire, la réabsorption tubulaire et la sécrétion tubulaire.

La filtration glomérulaire :

C'est un processus de filtration du plasma induisant la formation de l'urine primitive. Ce phénomène est purement passif et ne dépend que des différences de pression de part et d'autre de la paroi glomérulaire. Le diamètre des pores des capillaires du glomérule est assez large, environ 70 nanomètres, pour permettre le passage de molécules de masse moléculaire inférieure à 60 000 daltons. Seules les formes libres passent, celles liées aux protéines plasmatiques ne passent pas. Les composés polaires et hydrosolubles sont excrétés dans l'urine primitive.

La réabsorption

C'est un phénomène qui peut être soit actif soit passif. Les composés réabsorbés sont des molécules endogènes comme le sodium, le potassium, le glucose et les acides aminés, ainsi que des xénobiotiques liposolubles ou présentant une similitude structurale avec les molécules endogènes. La réabsorption dépend de la nature des molécules et du pH de l'urine tubulaire.

La sécrétion tubulaire

Il consiste en un transport des substances des capillaires péritubulaires vers la lumière des tubules rénaux, c'est-à-dire le filtrat. Elle permet d'éliminer dans l'urine des substances indésirables ou en excès qui sont réversiblement liées aux protéines plasmatiques et quelques médicaments comme la quinine et l'acide salicylique.

Élimination hépatobiliaire

Ce processus concerne les molécules non éliminées par voie rénale, en raison d'un poids moléculaire élevé ou d'un caractère hydrophobe. Les xénobiotiques qui rejoignent la circulation sanguine vont être acheminés vers le foie, ensuite le système biliaire, le tube digestif et enfin éliminés par voie fécale (**Fromenty, 2010 ; Klaassen *et al.*, 2013**).

6. Organes cibles des toxiques:

Lorsque l'organisme absorbe un xénobiotique, c'est-à-dire une substance étrangère qui ne lui est pas naturellement destinée, diverses réponses biologiques peuvent survenir. Ces effets peuvent être classés en deux grandes catégories : bénéfiques ou néfastes, en fonction de la nature du xénobiotique, de sa concentration, de la durée d'exposition et des mécanismes biologiques qu'il active.

Dans le cadre thérapeutique, certains xénobiotiques sont utilisés comme médicaments. Leur absorption déclenche des effets pharmacologiques souhaités, comme le traitement d'une maladie ou la modulation d'une fonction biologique. Cependant, ces substances doivent être administrées avec précaution, car au-delà d'une certaine dose, elles peuvent devenir toxiques. (Flesch *et al.*, 2016).

Les xénobiotiques peuvent exercer une toxicité tissulaire. Ainsi, lorsque l'organisme absorbe un xénobiotique, les effets biologiques dépendent fortement de la dose et du contexte d'exposition. La mauvaise gestion de certains xénobiotiques peut rapidement basculer vers des effets toxiques. Cela souligne l'importance d'une régulation stricte et d'une compréhension approfondie de la relation dose-réponse pour protéger la santé humaine.

La cytotoxicité est la capacité d'une substance à induire des dommages cellulaires, pouvant entraîner une altération de la structure et des fonctions cellulaires, voire la mort des cellules. C'est une stratégie majeure utilisée par le système immunitaire pour combattre les agressions externes et les dysfonctionnements de l'organisme. Ces effets cytotoxiques varient en fonction de la nature chimique du xénobiotique, de sa dose, et de la capacité de l'organisme à le métaboliser et à l'éliminer (OCDE, 2019).

7. Méthodologie des tests en toxicologie:

Les tests de toxicité sont des études de laboratoire pour tester et évaluer la possibilité qu'un xénobiotique exerce des effets nocifs pour l'organisme.

Les avancées scientifiques, surtout en génomique, pharmacocinétique et en biologie moléculaire, cellulaire et métabolique, ont permis d'effectuer des tests de dépistage *in vivo* et *in vitro* sur des cellules, des composants cellulaires, des tissus, des organes ou même des êtres vivants.

7.1 Tests *in vitro* :

Les tests *in vitro*, réalisés en dehors d'un organisme vivant, constituent une méthode essentielle pour analyser la toxicité des substances chimiques, notamment des xénobiotiques. Menés sur des systèmes cellulaires, tissulaires ou des modèles biologiques simplifiés, ils offrent une approche ciblée pour explorer des mécanismes spécifiques tout en limitant le recours aux animaux, en accord avec les principes éthiques : Réduction, Raffinement, Remplacement.

7.2 Tests *in vivo*

L'évaluation des effets toxiques des xénobiotiques sur le développement est réalisée à partir d'études expérimentales sur des animaux selon des protocoles standardisés. Les tests *in vivo* consistent à mener des expérimentations directement sur des organismes vivants, qu'il s'agisse d'animaux de laboratoire ou, dans certains cas, d'humains. Ces tests offrent la possibilité d'examiner les effets d'une substance chimique ou d'un xénobiotique dans un organisme complet, en prenant en compte les interactions complexes entre ses différents systèmes et organes. Ils sont utilisés pour évaluer la toxicité des substances, déterminer les doses létales et analyser les effets à long terme de l'exposition à ces substances. (Organisation de coopération et de développement économiques ,2019)

Chapitre 2 : Généralités sur les ligands bases Schiff et leurs complexes métallique

1. Généralité sur les bases de Schiff et leurs complexes métalliques

1.1 Les bases de Schiff

Les bases de Schiff ont été découvertes par le chimiste Hugo Schiff (1834-1915), qui fut le premier à les synthétiser en 1864 (**Schiff, 1864 ; Strecker, 1850**)

Une base de Schiff se définit comme tout composé comportant une double liaison C=N, formée par réaction entre un azote nucléophile et un composé carbonylé (**Holm & O'connor, 1971 ; Chiboub Fellah, 2008**).

Ces composés résultent d'une réaction de condensation entre un aldéhyde ou une cétone et une amine primaire, qu'elle soit de nature aliphatique ou aromatique, comme illustré dans le schéma ci-après :



Figure 2: Réaction générale de la formation d'une base de Schiff (R, R' et R'' = alkyle ou aryle)

Les bases de Schiff portant un groupe aryle comme substituant sont considérées comme les plus stables, en raison d'une plus grande délocalisation électronique au sein de la molécule. Elles sont également faciles à synthétiser. En revanche, celles issues de la condensation d'aldéhydes aliphatiques sont relativement moins stables et présentent une tendance à la polymérisation.

La formation des bases de Schiff à partir d'un aldéhyde ou d'une cétone est une réaction réversible, généralement réalisée sous catalyse acide ou basique, ou par chauffage.

En raison de cette réversibilité, il est souvent nécessaire d'éliminer l'eau formée au cours de la réaction afin de déplacer l'équilibre vers la formation du produit souhaité.

D'une manière générale, les aldéhydes réagissent plus rapidement que les cétones dans ces réactions de condensation.

En effet, la base de Schiff dérivée d'un aldéhyde présente moins d'encombrement stérique que celle issue d'une cétone.

Par ailleurs, la densité électronique au niveau du carbone carbonylé est plus faible dans le cas des cétones, ce qui module l'efficacité de l'attaque nucléophile de l'amine (**Derafa, 2014 ; Abdul, 2005**).

Les bases de Schiff se présentent fréquemment sous forme de solides qui précipitent au fur et à mesure de leur formation dans le milieu réactionnel, ce qui facilite grandement leur récupération, généralement par simple filtration.

1.2. Ligand de base de Schiff :

1.2.1 Définition

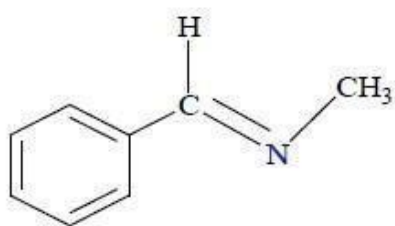
Le terme « ligand » provient du verbe latin ligare, qui signifie « lier ». Ainsi, les ligands de type base de Schiff sont des composés possédant un doublet électronique libre porté par un atome d'azote. Ce doublet confère au ligand un fort caractère nucléophile, lui permettant d'attaquer facilement des centres à faible densité électronique, tels que l'atome de carbone d'un groupement carbonyle ou les ions des métaux de transition (**Mugherli, 2006**).

Chez les métaux de transition, ces électrons viennent occuper des orbitales vides (notamment les orbitales d), formant ainsi ce que l'on appelle une liaison de coordination. Par ailleurs, en synthèse organique, les réactions mettant en jeu des bases de Schiff sont particulièrement utiles pour établir des liaisons carboneazote (**Ouari, 2014**).

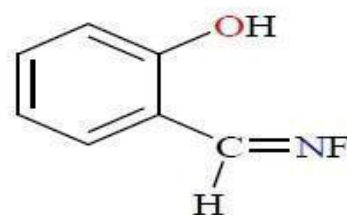
1.2.2 Classification des ligands bases de Schiff

Les ligands de type base de Schiff ont la capacité de former des liaisons de coordination avec les métaux de transition, en fonction des conditions expérimentales mises en œuvre. La chimie de coordination a fait l'objet de nombreuses études au cours des deux dernières décennies, une période marquée par une production scientifique particulièrement riche et une activité de recherche soutenue. Il en ressort que les travaux se sont largement concentrés sur la complexation des bases de Schiff avec les ions métalliques de transition (**Derafa, 2014 ; Abdul, 2005**).

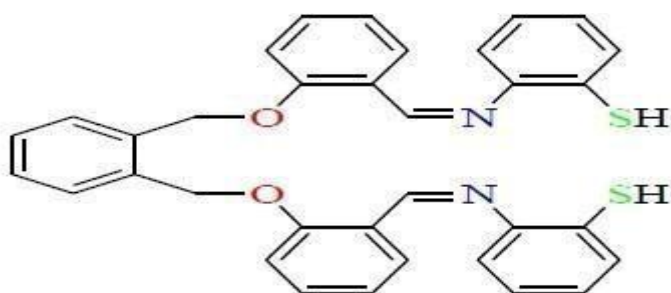
Ces ligands sont généralement des molécules organiques comportant des atomes donneurs d'électrons selon la définition de Lewis. Selon le nombre de sites de coordination disponibles, ils peuvent être classés en ligands monodentates, bidentates ou polydentates (**Basolo & Johnson, 1964**).



Monodentate



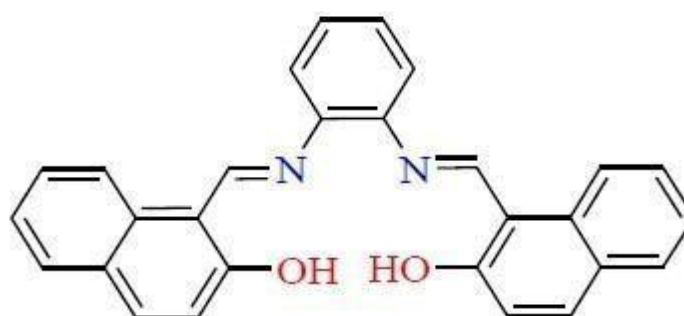
Bidentate



Tétradentate



Tridentate



Hexadentate

Figure 3: Différents types de bases de Schiff

1.3. Les complexes de base de Schiff

1.3.1 Définition :

Un complexe peut être défini comme une structure chimique composée d'un atome central, généralement un cation métallique, autour duquel viennent se fixer plusieurs molécules ou ions. Ces entités liées sont appelées des ligands, et elles peuvent interagir avec le centre métallique selon différentes modalités de liaison. La forme géométrique d'un tel édifice dépend directement de son indice de coordination, c'est-à-dire du nombre de ligands qui l'entourent. On classe généralement ces complexes en fonction du nombre de centres métalliques qu'ils renferment. Ainsi, lorsqu'un seul ion métallique est présent, on parle de complexe monométallique ou mononucléaire. En revanche, si la structure intègre deux ions métalliques ou plus, on utilise les termes de complexe bimétallique, trimétallique, ou plus généralement de complexe polymétallique (**Cotton ,1999**)

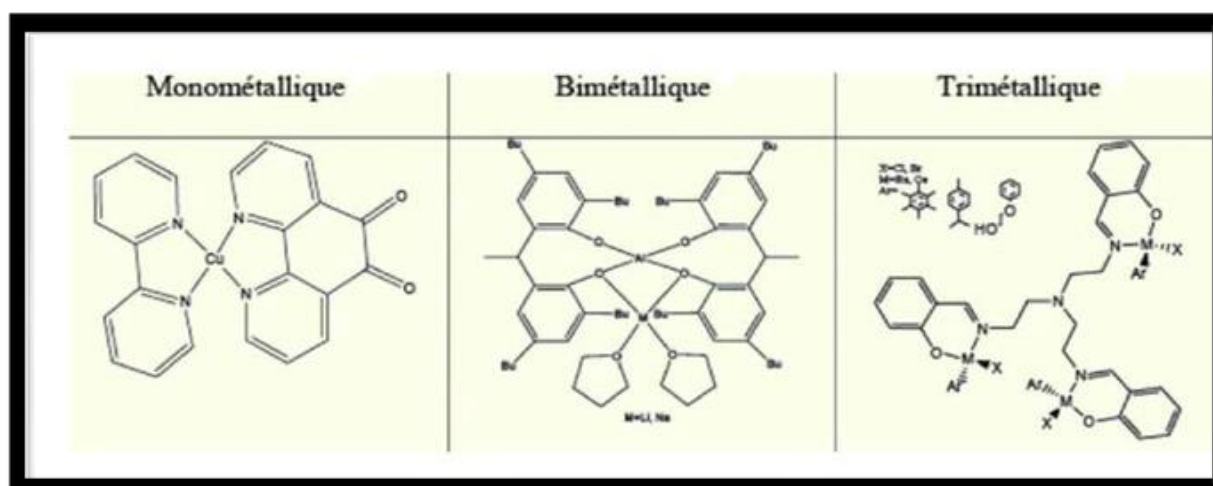


Figure 4:Exemple des complexes mononucléaires, binucléaires et trinucléaires.

La couleur souvent observée dans ces complexes s'explique par l'influence du ligand sur la répartition électronique de l'atome central, ce qui modifie les niveaux d'énergie et les transitions électroniques. Les anions, en raison de leur charge négative, ont tendance à former des liaisons plus fortes avec le cation métallique. Quant aux chélates, il s'agit de complexes particuliers où les ligands, souvent riches en azote, sont dits polydentés : ils peuvent se lier au métal par deux à six points d'attache, ce qui renforce considérablement la stabilité de l'ensemble. Cette propriété de chélation accroît également la robustesse des liaisons formées. La combinaison des propriétés des ligands organiques et des métaux de transition élargit considérablement leurs caractéristiques physicochimiques (**Al Zoubi, 2013**). Ces composés trouvent de nombreuses applications, notamment en médecine et dans l'industrie, où ils aident à mieux comprendre les modèles biologiques, à étudier la structure des biomolécules, ainsi que les mécanismes biologiques fondamentaux (**Fasina, 2012**).

1.3.2 Application complexes de base de Schiff

En raison de leur rôle clé dans de nombreux processus biologiques et industriels, les complexes métalliques sont exploités dans divers domaines. Voici quelques exemples de leurs applications les plus courantes :

- Utilisation en thérapeutique médicale :
- Traitement de maladies spécifiques : Ils interviennent dans la prise en charge de certaines pathologies, comme l'accumulation anormale de cuivre dans le foie, le cerveau ou les reins. Ils sont également utilisés en cancérologie : des complexes à base de platine, tels que le cisplatine, le carboplatine ou l'oxaliplatine, sont couramment employés dans le traitement de divers cancers.
- Action antiacide : Certains complexes aident à neutraliser l'acidité gastrique.
- Propriétés antibactériennes : Ils peuvent inhiber la croissance de bactéries pathogènes (**Thangadurai & Natarajan, 2002**).
- Applications en chimie analytique : Ils sont utilisés pour réaliser des titrages, des précipitations sélectives, ou encore pour séparer différents métaux présents dans un mélange (**Orlandi et al., 2001**).
- Extraction minière : Les complexes permettent de solubiliser certains métaux contenus dans les minerais. Par exemple, l'or peut être dissous sous forme de complexe cyanuré pour faciliter son extraction.

· Détection chimique : La formation d'un complexe coloré est une méthode courante pour caractériser la présence d'une espèce chimique spécifique dans un échantillon (**Microsoft Encarta 2009. 1993-2008 Microsoft Corporation**)

2. Toxicité d'un ligand et des complexes bases Schiff :

2.1. Toxicité aiguë *in vivo*:

2.1.1 Ligands bases de Schiff :

Les études de toxicité aiguë par voie orale chez le rongeur montrent que les ligands bases de Schiff, non complexés, présentent généralement une faible toxicité, avec des doses létales médianes (DL50) élevées. Ainsi, le ligand TNS, dérivé du tryptamine et du 5nitrosalicylaldéhyde, s'est révélé non toxique chez la souris jusqu'à une dose de 5 g/kg, sans aucun signe de toxicité comportementale ou lésion organique macroscopique, ce qui place sa DL50 au-delà de cette valeur (Mohamed *et al.*, 2012). De même, des ligands hétérocycliques à base de furane, thiophène ou pyrrole n'ont induit aucune mortalité ni effet toxique notable chez le rat à des doses allant jusqu'à 2 g/kg (**Mesbah *et al.*, 2018**). Ces résultats indiquent que les ligands seuls possèdent une marge de sécurité très large, probablement en raison de leur métabolisation rapide ou de leur faible absorption systémique.

2.1.2 Complexes de cuivre (Cu) :

Les complexes de cuivre (II) ont été évalués dans plusieurs modèles animaux, révélant un profil de toxicité aiguë généralement faible à modéré, bien que supérieur à celui des ligands seuls (**Hajrezaie *et al.*, 2012**) ont administré un complexe de cuivre (II) dérivé de la 2-hydroxyacétophénone et de l'éthylènediamine à des rats Sprague-Dawley à des doses allant jusqu'à 2 000 mg/kg. Aucun signe de toxicité ni de mortalité n'a été observé pendant 14 jours, et les analyses histologiques du foie et des reins n'ont révélé aucune lésion, confirmant une DL50 supérieure à 2 000 mg/kg. Par ailleurs, un complexe de cuivre (II) avec un ligand dérivé du tryptamine et du 5-chlorosalicylaldéhyde a montré une DL50 également supérieure à 5 g/kg chez la souris, avec une absence de modification du comportement ou des paramètres biochimiques (**Mustafa *et al.*, 2009**). Cependant, à des doses très élevées (proches de 5 g/kg), certains complexes de cuivre peuvent induire une légère augmentation des enzymes hépatiques (transaminases), suggérant une hépatotoxicité modérée.

2.1.3 Complexes de Nickel (Ni) :

Les complexes de nickel (II) se distinguent par une très faible toxicité aiguë, comparable à celle des ligands seuls, voire inférieure dans certains cas (Mohamed et al, 2012) ont administré un complexe de nickel(II) dérivé du tryptamine et du 5-nitrosalicylaldéhyde (complexe (TNS)₂Ni) à des souris ICR à des doses de 2 et 5 g/kg. Aucune mortalité ni signe clinique de toxicité n'a été observé sur une période de 14 jours, et l'examen nécropsique n'a révélé aucune anomalie macroscopique ou microscopique des organes, plaçant la DL50 au-delà de 5 g/kg. De même, un complexe de nickel(II) avec un ligand tétradentate dérivé du 4,4'diaminodiphénylesulfide et du pyrrole-2-carboxaldéhyde n'a induit aucune toxicité chez le rat à des doses allant jusqu'à 1 g/kg (**Mesbah et al., 2018**). Cette excellente tolérance s'explique par la faible libération d'ions nickel libres dans l'organisme, le métal restant chélaté par le ligand. Aucune atteinte rénale, hépatique ou hématologique n'a été rapportée dans ces études.

2.1.4 Complexes de zinc (Zn) :

Les complexes de zinc (II) sont considérés comme les plus sûrs parmi les métaux de transition étudiés, bénéficiant de la biocompatibilité naturelle du zinc, un oligoélément essentiel. Dans une étude de toxicité aiguë chez le rat, un complexe de zinc(II) dérivé de la 2-hydroxyacétophénone et de l'éthylènediamine n'a provoqué aucune mortalité ni signe de souffrance hépatique ou rénale à des doses allant jusqu'à 2 000 mg/kg (**Hajrezaie et al., 2012**). Les paramètres hématologiques et biochimiques sont restés dans les valeurs normales, et l'examen histologique du foie, des reins et de la rate n'a montré aucune lésion. De même, des complexes de zinc (II) avec des ligands dérivés de l'anthracène et du furane ont été administrés à des souris à des doses de 1 000 mg/kg sans aucun effet toxique détectable (**Kraicheva et al., 2013**). La DL50 de ces complexes dépasse systématiquement 2 000 mg/kg, les plaçant en classe IV (non toxique). Contrairement aux complexes de cuivre, aucun effet secondaire lié au stress oxydatif n'a été observé *in vivo*, probablement grâce au rôle antioxydant endogène du zinc.

2.1.5 Complexes de Cadmium (Cd) :

À l'opposé des autres métaux, les complexes de cadmium(II) présentent une toxicité aiguë élevée, limitant sévèrement leur potentiel thérapeutique. Une étude sur un complexe de cadmium(II) avec un ligand tétradentate dérivé du 4,4'-diaminodiphényléther et du salicylaldéhyde a montré une DL50 chez le rat de seulement 150 mg/kg, avec une mortalité survenant dans les 48 heures suivant l'administration (**Issaadi et al., 2005**). Les signes de toxicité incluaient une léthargie sévère, une anorexie, une perte de poids rapide et des diarrhées hémorragiques. L'examen histologique a révélé une nécrose tubulaire rénale aiguë, une stéatose hépatique et une atrophie splénique, typiques de la toxicité du cadmium. De plus, un complexe de cadmium(II) dérivé du thiophène-2-carboxaldéhyde a induit une mortalité de 50 % des souris à une dose de 50 mg/kg, avec des lésions testiculaires et pancréatiques sévères (**Shakir et al., 2011**). Contrairement aux complexes de zinc ou de nickel, les complexes de cadmium libèrent des ions Cd^{2+} toxiques qui s'accumulent dans les tissus et perturbent de nombreuses enzymes.

2.2. Toxicité chronique *in vivo*:

2.2.1 Ligands bases de Schiff :

Les études de toxicité chronique par administration orale répétée chez le rongeur (généralement sur 28 à 90 jours) montrent que les ligands bases de Schiff, non complexés, sont généralement bien tolérés, avec une faible toxicité cumulative (Mohamed et al, 2012) ont administré quotidiennement le ligand TNS, dérivé du tryptamine et du 5- nitrosalicylaldéhyde, à des rats Sprague-Dawley à des doses de 30 et 60 mg/kg pendant 28 jours. Aucune mortalité ni signe clinique de toxicité n'a été observé. Les analyses biochimiques ont révélé des paramètres hépatiques (transaminases ALAT, ASAT) et rénaux (créatinine, urée) dans les limites normales, et l'examen histologique du foie, des reins et de la rate n'a montré aucune lésion structurelle. De même, Mesbah et al. (2018) ont administré un ligand hétérocyclique à base de furane à des rats pendant 60 jours à une dose de 25 mg/kg. Aucune modification du comportement, de la prise alimentaire ou du poids corporel n'a été notée, et les organes vitaux sont restés sains.

Cependant, à des doses plus élevées (200 mg/kg pendant 90 jours), certains ligands portant des groupements nitro ont induit une légère augmentation du poids du foie et une hypertrophie hépatocellulaire réversible, suggérant une induction enzymatique sans toxicité franche.

Globalement, les ligands bases de Schiff seuls appartiennent à la catégorie des composés faiblement toxiques en administration chronique, avec une dose sans effet nocif observable (NOAEL) généralement supérieure à 50 mg/kg/jour.

2.2.2 Complexes de cuivre (Cu) :

Les complexes de cuivre (II) administrés de manière répétée montrent une toxicité chronique modérée, dose-dépendante, avec une accumulation progressive du cuivre dans les tissus. (**Hajrezaie et al., 2012**) ont administré un complexe de cuivre(II) dérivé de la 2-hydroxyacétophénone à des rats à des doses de 10, 20, 40 et 80 mg/kg pendant 28 jours. À 40 et 80 mg/kg, une légère augmentation des enzymes hépatiques (ALAT, ASAT) a été observée à partir du 21^e jour, sans lésion histologique majeure. En revanche, à 10 et 20 mg/kg, aucun signe de toxicité n'a été détecté (**Mustafa et al. 2009**) sur un complexe de cuivre(II) dérivé du tryptamine et du 5-chlorosalicylaldéhyde, administré à des souris à 50 mg/kg pendant 60 jours, a révélé une accumulation modérée de cuivre dans le foie et les reins, associée à une légère augmentation du malondialdéhyde (marqueur du stress oxydatif) et à une diminution du glutathion.

Cependant, aucun décès ni lésion tissulaire sévère n'est survenu. À des doses plus élevées (100 mg/kg pendant 90 jours), des complexes de cuivre ont induit une fibrose périportale hépatique légère et une nécrose tubulaire rénale focale chez certains rats. Ainsi, les complexes de cuivre peuvent être utilisés en administration chronique à condition de ne pas dépasser une dose de 20 à 30 mg/kg/jour, au-delà de laquelle une toxicité cumulative apparaît.

2.2.3 complexes de nickel (Ni) :

Les complexes de nickel(II) présentent une excellente tolérance en administration chronique, comparable à celle des ligands seuls, avec une absence de toxicité significative aux doses thérapeutiques. **(Mohamed et al, 2012)** ont administré le complexe $(TNS)_2Ni$ à des rats à des doses de 30 et 60 mg/kg pendant 60 jours. Aucune mortalité ni modification du comportement ou du poids corporel n'a été observée. Les bilans hépatique et rénal sont restés normaux, et l'examen histologique du foie, des reins, du cœur et des poumons n'a révélé aucune anomalie. De plus, une étude de toxicité chronique de 90 jours sur un complexe de nickel(II) dérivé du 4,4'-diaminodiphénylsulfide et du pyrrole-2-carboxaldéhyde, administré à 25 mg/kg/jour, n'a montré aucune accumulation tissulaire notable de nickel ni de signe de stress oxydatif **(Mesbah et al., 2018)**. Contrairement aux complexes de cuivre, les complexes de nickel n'induisent pas d'hépatotoxicité ni de néphrotoxicité cumulative, probablement parce que le nickel reste fortement chélaté et est excrété efficacement. La dose sans effet nocif observable (NOAEL) pour les complexes de nickel se situe au-delà de 60 mg/kg/jour.

2.2.4 Complexes de zinc (Zn) :

Les complexes de zinc(II) sont les mieux tolérés en administration chronique, bénéficiant du statut d'oligoélément essentiel du zinc. **(Hajrezaie et al., 2012)** ont administré un complexe de zinc(II) dérivé de la 2-hydroxyacétophénone à des rats à des doses allant jusqu'à 100 mg/kg pendant 60 jours. Aucune toxicité n'a été observée, que ce soit sur le plan comportemental, biochimique ou histologique. Les taux de zinc sérique et tissulaire sont restés dans les limites physiologiques, indiquant une homéostasie maintenue. **(Kra cheva et al, 2013)** ont évalué des complexes de zinc(II) avec des ligands à base d'anthracène administrés à des souris à 50 mg/kg pendant 90 jours. Aucune mortalité, aucune altération des paramètres hématologiques (numération formule sanguine) ni des marqueurs de fonction hépatique et rénale n'a été notée. L'examen histologique du foie, des reins, de la rate et du pancréas est resté normal. Même à des doses élevées (200 mg/kg pendant 28 jours), les complexes de zinc n'ont induit qu'une légère augmentation transitoire de la métallothionéine hépatique, sans dommage tissulaire. La dose sans effet nocif observable (NOAEL) pour les complexes de zinc dépasse 100 mg/kg/jour.

2.2.5 Complexes de Cadmium (Cd) :

À l'opposé des autres métaux, les complexes de cadmium(II) sont extrêmement toxiques en administration chronique, avec des effets délétères irréversibles même à très faibles doses.

(Issaadi et al, 2005) ont administré un complexe de cadmium(II) dérivé du 4,4'- à des rats à une dose de 5 mg/kg/jour pendant 28 jours. Dès la deuxième semaine, les animaux ont présenté une perte de poids significative, une anorexie, une faiblesse musculaire et une protéinurie. L'examen histologique à la fin de l'étude a révélé une nécrose tubulaire rénale étendue, une fibrose hépatique périportale et une atrophie splénique. Les analyses biochimiques ont montré une élévation massive de la créatinine, de l'urée et des transaminases. Une étude de (Shakir et al, 2011) sur un complexe de cadmium(II) dérivé du thiophène-2carboxaldéhyde, administré à 2 mg/kg/jour pendant 60 jours, a induit une mortalité de 40 % des animaux avant la fin du protocole, avec des lésions testiculaires sévères (atrophie des tubes séminifères) et pancréatiques (nécrose des îlots de Langerhans).

Même à des doses aussi faibles que 0,5 mg/kg/jour pendant 90 jours, les complexes de cadmium ont provoqué une accumulation irréversible de cadmium dans le cortex rénal, avec une fibrose interstitielle et une insuffisance rénale chronique. En conséquence, les complexes de cadmium sont classés comme cancérogènes et néphrotoxiques avérés, et leur utilisation en thérapeutique humaine est totalement prohibée.

2.3. Toxicité *in vitro* :

2.3.1 Les ligands bases de Schiff :

La toxicité de ces ligands varie énormément selon leur composition chimique. Considérez le composé dérivé du phtalaldéhyde : son action contre les cancers du sein (MCF-7), du col utérin (HeLa) et du poumon (A549) demeure plutôt modérée, avec des valeurs d'IC₅₀ oscillant entre 138 et 265 µg/mL.

Le ligand synthétisé à partir du tryptophane et du pyridinecarboxaldéhyde, lui, fonctionne différemment. Face aux cellules HeLa, il s'avère quasi inefficace — plus de 90 % survivent sans problème, même exposées à une concentration élevée de 1000 µM. En revanche, son efficacité s'améliore drastiquement sur la leucémie (lignée KCL-22), où l'IC₅₀ descend à 56 µM.

Sur le plan de la biocompatibilité sanguine, les résultats sont vraiment rassurants. L'examen des érythrocytes humains démontre une excellente tolérance : l'hémolyse reste inférieure à 20 %, attestant la sécurité du composé pour l'usage sanguin.

Bref, bien que ces ligands ne constituent pas encore des solutions thérapeutiques révolutionnaires en eux-mêmes, leur potentiel anticancéreux demeure très prometteur, notamment parce qu'ils présentent l'atout majeur de respecter l'intégrité des globules rouges.

(Kumari, et al ,2025) (**Malakyan, M., Babayan, N., Grigoryan, R., et al, 2016**).

2.3.2complexes de cuivre (Cu) :

Les propriétés anticancéreuses se renforcent considérablement. Considérez cet exemple : un composé cuivrique dérivé d'hydroxyacétophénone n'a pas seulement assuré la protection gastrique de rats face à des lésions graves, mais il s'est également avéré exceptionnellement bien toléré, sans manifester de toxicité même à des concentrations extrêmement élevées (2000 mg/kg). C'est un indicateur fort prometteur. En tests sur cultures de cellules malignes, les composés cuivriques montrent une action puissante. L'un d'eux a détruit environ la moitié des cellules HeLa à une concentration de seulement 7 μ M. Concernant les cellules de carcinome mammaire (MCF-7 et MDA-MB-231), les concentrations requises chutent davantage, se situant entre 0,01 et 20 μ M. De plus, il y a un autre avantage : certains composés cuivriques préservent les hématies. Plutôt que de les endommager, ils répriment l'effet hémolytique d'autres molécules. En somme, les composés cuivriques conjuguent une puissance thérapeutique certaine et une excellente compatibilité avec le système sanguin (**Malakyan, M., Babayan, N.,Grigoryan, R., et al ,2016**) (**Kraicheva, I., Todorova, Z., Momekova, D., et al ,(2023)**)

2.3.3 Complexes de zinc (Zn) :

Les complexes de zinc offrent un tableau plus contrasté. Leur efficacité dépend beaucoup de la structure du ligand qui les porte, avec des doses efficaces sur des cellules de cancer du sein également comprises entre 0,01 et 20 μM . D'autres complexes de zinc ont fait leurs preuves sur un éventail plus large de cancers, montrant une activité intéressante sur les lignées A549 (poumon), HeLa (col de l'utérus) et MCF-7 (sein). Mais attention, tous ne se valent pas. Sur une lignée particulière de mésothéliome (H2452), un complexe de zinc s'est révélé bien moins performant, avec une dose efficace grim pant jusqu'à environ 319 $\mu\text{g/mL}$. Cela signifie que certains types de tumeurs sont naturellement plus résistants à ces composés. Malgré cette variabilité, et même s'ils sont un peu moins étudiés que les complexes de cuivre, les complexes de zinc restent des candidats prometteurs, à condition de bien choisir leur structure chimique. (Kraicheva, I., Todorova, Z., Momekova, D., et al ,2023)(Kumari, M., Sangwan, V., & Arpna ,2025)

3.1 Ligands bases de Schiff :

Les études basées sur les prédictions computationnelles in silico (telles que SwissADME) mettent en évidence un profil pharmacocinétique très favorable pour les ligands organiques de bases de Schiff libres :

Absorption gastro-intestinale et Biodisponibilité : Les ligands de bases de Schiff présentent généralement une absorption gastro-intestinale élevée. En raison de leur structure organique linéaire ou aromatique non complexée, ils respectent rigoureusement les critères de la règle des 5 de Lipinski (masse moléculaire souvent inférieure à 500 g/mol, nombre restreint de donneurs et d'accepteurs de liaisons hydrogène). Cela leur confère une excellente biodisponibilité par voie orale.

Distribution et Lipophilie intermédiaire : Contrairement à leurs complexes métalliques, les ligands libres possèdent une lipophilie (Log P) modérée à intermédiaire. Cette propriété leur permet une bonne solubilité dans les milieux aqueux biologiques tout en conservant une capacité de diffusion passive à travers les membranes.

Barrière Hémato-Encéphalique (BHE) : Les simulations montrent que de nombreux ligands de bases de Schiff libres possèdent la capacité intrinsèque de traverser la barrière hématoencéphalique de manière passive, ce qui n'est plus le cas une fois qu'ils sont rigidifiés et alourdis par un ion métallique (comme le cuivre ou le zinc).

Interactions Enzymatiques (Cytochromes) : Les ligands libres montrent un profil de sécurité intéressant, car ils agissent rarement comme des inhibiteurs des isoenzymes majeures du Cytochrome P450 (CYP1A2, CYP2C9, etc.), minimisant ainsi les risques de toxicité par accumulation ou d'interactions médicamenteuses systémiques. **(Kumari, Sangwan & Arpna, 2025).**

3.2. Complexes de zinc (Zn):

Les caractéristiques toxicocinétiques des complexes de zinc (Zn (II) de bases de Schiff sont fortement dictées par l'environnement de coordination créé autour du centre métallique stable. Tout comme pour le cuivre, la formation du complexe de zinc engendre un partage de charge électronique entre les atomes donneurs d'azote (azométhine) ou de soufre/oxygène du ligand et l'ion Zn (II). Ce phénomène de chélation réduit la polarité de l'ion métallique et amplifie la lipophilie globale de la structure. Les analyses ADME in silico démontrent que ces complexes de zinc possèdent d'excellents scores de perméabilité membranaire, leur permettant de s'infiltrer efficacement à travers les structures phospholipidiques cellulaires. Les prédictions confirment une absorption gastro-intestinale élevée, une liaison importante aux protéines plasmatiques, et une absence d'effet inhibiteur sur les principales enzymes du cytochrome P450, limitant ainsi les risques d'interactions médicamenteuses toxiques. **(Kumari, Sangwan & Arpna, 2025).**

3.3. Complexes de cuivre (Cu) :

Les études pharmacocinétiques et de modélisation moléculaire montrent que la complexation des ligands de base de Schiff avec l'ion cuivre Cu(II) modifie profondément leur comportement *in silico*. Selon la théorie de la chélation de Tweedy, la superposition des orbitales du ligand et la diminution de la charge positive de l'ion Cu (II) augmentent considérablement la nature lipophile du complexe. Cette liposolubilité accrue facilite le passage passif du composé à travers les membranes cellulaires bactériennes ou tumorales. Les modélisations ADME révèlent généralement que ces complexes présentent une forte absorption gastro-intestinale et respectent les critères de biodisponibilité (règles de Lipinski), bien que leur capacité à franchir de manière passive la barrière hématoencéphalique (BHE) soit plus faible ou modérée par rapport au ligand libre en raison de l'augmentation de la masse moléculaire et de la géométrie de coordination (généralement octaédrique) **(Kumari, Sangwan & Arpna, 2025)**.

4. Mécanisme d'action

4.1 Ligands bases de Schiff :

Le ligand possède des mécanismes d'action propres :

Activité Antimicrobienne par interaction enzymatique : Le mécanisme d'action antibactérien et antifongique du ligand repose sur l'interaction des doublets libres de l'atome d'azote de la liaison azométhine ($-C=N-$) avec les centres actifs des enzymes des micro-organismes. Le ligand forme des liaisons hydrogène avec les structures cellulaires essentielles des bactéries ou des champignons, perturbant ainsi leurs processus métaboliques vitaux et inhibant leur croissance.

Cytotoxicité et Sûreté Cellulaire (Profil de non-toxicité) : Dans de nombreuses configurations (selon les groupements aromatiques de départ), le ligand base de Schiff seul affiche une cytotoxicité faible à modérée, voire une absence totale de toxicité sur les cellules saines ou neuronales.

Pouvoir Chélatant Endogène (Effet antioxydant) : Grâce à la flexibilité de ses sites donneurs d'électrons (Azote, Oxygène ou Soufre), le ligand libre peut agir comme un piège à radicaux libres ou s'associer aux métaux traces endogènes présents dans l'organisme pour exercer des effets biologiques secondaires **(Bakar et al., 2011 ; Tsacheva et al., 2023)**.

4.2. Complexes de zinc (Zn) :

Son mécanisme d'action s'oriente principalement vers l'inhibition enzymatique et la perturbation structurelle des membranes parasitaires :

Action antimicrobienne (Antibactérienne et Antifongique) : Grâce à leur forte lipophilie, les complexes de zinc franchissent aisément la paroi rigide des bactéries (Gram positives et Gram négatives comme *E. coli*, *S. aureus*) et des champignons (comme *Candida albicans*). Une fois introduits dans le cytoplasme, ils libèrent ou exposent le centre métallique qui va se lier de manière compétitive aux groupements sulfhydryles (-SH) et aminés des enzymes métaboliques vitales du micro-organisme. Cette liaison dénature les protéines bactériennes, bloque les sites actifs enzymatiques et stoppe les processus de respiration et de synthèse cellulaire (ce qui se traduit expérimentalement par des zones d'inhibition importantes lors des tests de diffusion).

Cytotoxicité modérée et biocompatibilité : Contrairement aux complexes de cuivre ou de cadmium, les complexes de zinc affichent généralement une cytotoxicité plus sélective et modérée sur les cellules saines, ce qui leur confère un profil de sécurité (fenêtre thérapeutique) souvent plus favorable dans le développement d'agents antimicrobiens d'origine métallique (**Mesbah, 2018 ; Kumari et al., 2025**).

4.3. Complexes de cuivre (Cu) :

Le mécanisme d'action des complexes de cuivre se décline principalement en deux facettes :

Une cytotoxicité ciblée (action anticancéreuse/antimicrobienne) et une activité antioxydante/protectrice tissulaire à faible dose.

Cytotoxicité et induction de l'apoptose : les complexes de cuivre manifestent une cytotoxicité très élevée (souvent supérieure à celle des ligands seuls) sur les lignées cellulaires cancéreuses. Ils agissent comme des inhibiteurs du protéasome cellulaire.

Activité gastroprotectrice et antioxydante (Effet SOD-like) : à des doses thérapeutiques non toxiques, les complexes de cuivre protègent les tissus (comme la muqueuse gastrique contre les agressions par l'éthanol) (**Malakyan et al., 2016 ; Hajrezaie et al., 2012**).

Étude Expérimentale

Partie *in vivo*

1. Matériel chimique :

Au cours de notre étude expérimentale, nous avons utilisé des molécules de synthèse, un ligand base de Schiff et ses complexes métalliques de zinc et de cuivre.

Les produits (ligand, complexes de cuivre et de zinc) ont été synthétisés par Pr. Chiboub Fellah FZ au sein du Laboratoire de Chimie Inorganique et Environnement (LCIE) de l'Université de Tlemcen.



Figure 5: ligand de base de Schiff et leurs complexes de cuivre et de zinc (De droite à gauche)

2. Matériel animal :

Le modèle animal sélectionné pour cette étude *in vivo* est le rat blanc Wistar. L'étude a été menée sur 21 males ayant un poids vif entre 224 g et 436 g. L'élevage des animaux ainsi que les différents tests (toxicité aiguë et toxicité sub-chronique) ont été réalisés au sein de l'animalerie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers (SNV-STU), Université de Tlemcen.

Les rats sont hébergés dans des cages en plastique tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois renouvelable 3 fois par semaine pour assurer le bon état hygiénique. Les rats disposaient d'un accès libre à l'eau et à l'aliment.



Figure 6: Rats Wistar

3. Évaluation de la toxicité aiguë:

Les rats sont divisés en lots (3 lots traités + un lot témoin), et recevaient une dose unique du ligand et ses complexes de cuivre et de zinc. Les rats sont suivis pendant 14 jours. Durant ce temps, une observation régulière est imposée (comportement alimentaires, le pelage.) ainsi que la pesée.

Lot 1 : rats témoins recevant uniquement l'aliment et l'eau.

Lot 2 : rats recevant une dose de 500 mg/kg du ligand

Lot 3 : rats recevant une dose de 500mg/kg du complexe cuivre

Lot 4 : rats recevant une dose de 500 mg/kg du complexe zinc

4.Évaluationde la toxicité sub-chronique :

Les rats sont divisés en lots (3 lots traités + un lot témoin), et recevaient quotidiennement une dose de 100 mg/kg du ligand et ses complexes de cuivre et de zinc séparément. Cela pendant 14jours. Durant ce temps, une observation régulière est imposée (comportement alimentaires, le pelage) Ainsi que la pesée.

Lot 1: rats témoins recevant uniquement l'aliment et l'eau.

Lot 2: rats recevant une dose de 100 mg/kg de ligand

Lot 3: rats recevant une dose de 100 mg/kg de complexe cuivre

Lot 4: rats recevant une dose de 100 mg/kg de complexe zinc

5. Méthode :

Les solutions pour le gavage gastrique sont préparées à différentes concentrations en fonction de la dose administrée.



Figure 7: solutions préparées pour le gavage gastrique (Complexe de Zinc, Complexe de Cuivre et ligand)

Partie *in vitro*

1. Lieu et objectif d'étude :

L'étude *in vitro* a été menée dans le laboratoire de recherche Antibiotiques, Antifongiques physico-chimie : Synthèse et Activité Biologique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la Terre et de l'Université Abou Bekr Belkaid de « Tlemcen ».

Cette étude biologique permet d'évaluer la toxicité sur les globules rouges humains de trois molécules, une base de Schiff et ses complexes métalliques (Complexes de cuivre et de zinc).

2. Matériel chimique utilisé :

Les mêmes molécules testées *in vivo* sont étudiées *in vitro* pour leur éventuelle toxicité vis-à-vis les globules rouges (Effet hémolytique).

3. Principe de l'effet hémolytique :

Ce principe repose sur la mesure de l'absorbance à 540 nm de l'hémoglobine présente dans les surnageants. Ces surnageants sont obtenus après centrifugation du milieu où les globules rouges ont été incubés en présence des différentes molécules chimiques.

3.1. Préparation du culot (suspension érythrocytaire GRH) :

On commence par prélever du sang sur un donneur sain, dans un tube contenant de l'héparine. Ensuite, on centrifuge ce sang à 4000 rpm pendant 5 min. On récupère le culot (les globules rouges) et on le lave avec une solution PBS. Ces étapes de centrifugation, élimination du surnageant et lavage sont répétée trois fois. Enfin, on ajoute 1 ml de PBS au culot obtenu.

3.2. Évaluation de l'activité hémolytique (fuite de l'hémoglobine) :

Les érythrocytes ont été mis en suspension dans du PBS à raison d'une dilution de 1/10 (1 ml de la suspension pour 9 ml de PBS). Cette suspension a été incubée à 37 °C pendant 30 min en présence de différentes concentrations des molécules, puis centrifugée à 4000 rpm pendant 5 min.

La libération d'hémoglobine a été quantifiée par la mesure de l'absorbance du surnageant à 540 nm. Le contrôle négatif (absence de lyse) a été préparé en suspendant les cellules dans une solution physiologique de PBS, tandis que le contrôle positif (hémolyse totale) a été obtenu par choc osmotique dans de l'eau distillée (Lee, 2002).

3.2. Préparation des solutions :

3.2.1. Préparation de PBS (Phosphate buffer saline) :

La solution tampon PBS a été préparée à un pH de $7,4 \pm 0,02$ en mélangeant les composés suivants aux concentrations indiquées.

NaCl	8 g
KCl	0,2 g
Na ₂ HPO ₄	1,44 g
KH ₂ PO ₄	0,24 g

3.3. Préparation de l'échantillon (Solutions des molécules):

Le protocole consiste à mélanger 0,02 g du ligand base Schiff (ou le complexe de zinc ou de Cuivre séparément) avec 5 ml du PBS et de préparer une série de dilution (1/2).

3.4. Effet hémolytique :

Dans des tubes à hémolyse, ajouter 0,2 ml de la suspension de GRH (10%) à 0,8 ml de la solution des molécules aux différentes concentrations.

-Positif : 0,2 ml de suspension de GRH + 0,8 ml d'eau distillée

-Négatif : 0,2 ml de suspension de GRH + 0,8 ml de solution physiologique

Incuber à 37°C pendant 30 min. Après, centrifuger à 4000 rpm pendant 5 min et mesurer l'absorbance à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis, en utilisant un blanc contenant du PBS.

Calculer le pourcentage d'hémolyse selon la formule :

$$\% \text{ d'hémolyse} = (At / Ac) * 100$$

Ac = Absorbance du control positif

At = Absorbance du test

La CE50 ou DE50 correspond à la dose ou concentration d'un médicament permettant d'atteindre 50 % de son effet maximal. C'est un indicateur clé pour évaluer et comparer la puissance des substances pharmacologiques (**Medical Pharmacology and Therapeutics, 2018**).

Résultats et discussion

1. Résultats:

1.1 Evaluation de la toxicité aiguë *in vivo*:

Les rats de chaque lot ont été suivis continuellement pendant une heure après l'administration d'une dose unique et élevée de la molécule. Cette observation a été étendue le long de la durée d'étude de la toxicité aiguë (14 jours).

Tableau 1: suivi des rats après une dose unique de la molécule (500 mg/kg)

La molécule	Mortalité	Latence de mortalité
Ligand	0 /3	Non évaluée
Complexe de cuivre	0/3	Non évaluée
Complexe de zinc	0/3	Non évaluée

L'évolution du poids (Figure 8) sur 14 jours ne révèle pas de signal de toxicité systémique.

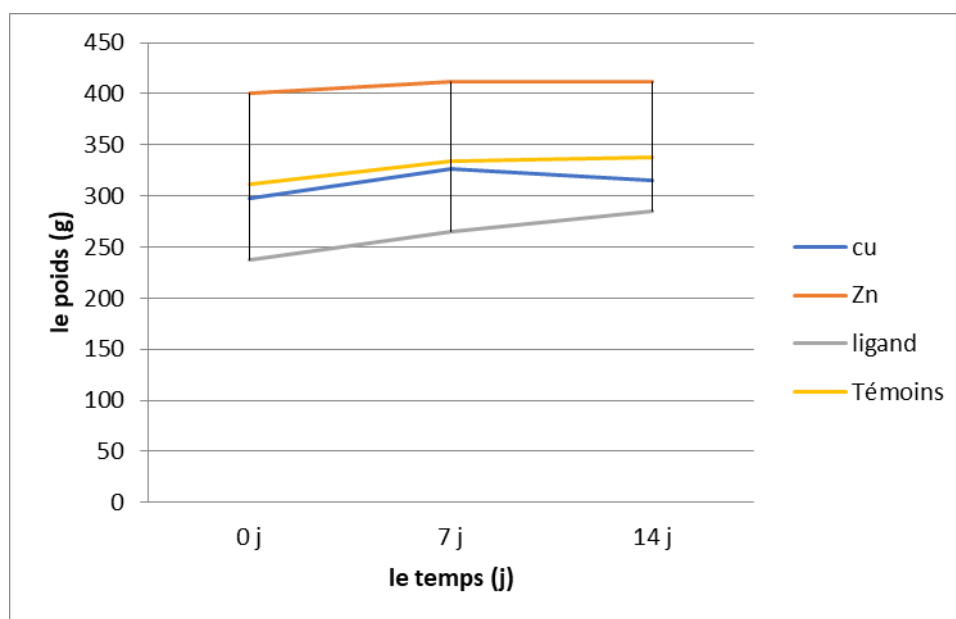


Figure 8 : Evolution du poids des rats par moyenne en g durant la période d'étude

* Groupe Cuivre : 297,6 - 326,3

- 315,6 g (légère augmentation puis stabilisation).

* Groupe Zinc : 400 → 412 → 411,6 g (légère prise de poids).

* Ligand : 237,3 → 265,3 → 284,7 g (augmentation régulière).

* Témoins : environ 265 → 289 g.

Tous les groupes présentent une prise de poids normale. Le ligand semble même associé à une prise de poids régulière. Aucun signe de souffrance ou de détérioration de l'état général n'a été observé.

La figure 9 montre l'effet sur la glycémie. Les moyennes de glycémie mesurées en condition aiguë sont proches entre les groupes.

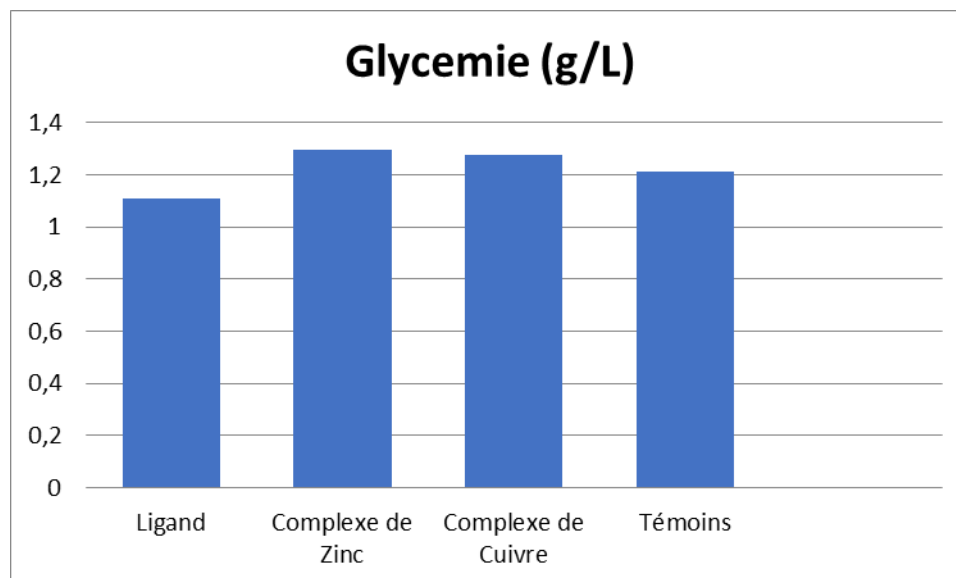


Figure 9: Glycémie des rats durant la période d'étude

Les valeurs enregistrées sont de l'ordre de 1,11 g/l pour le ligand, 1,30 g/l pour le complexe de Zn, 1,28 g/l pour le complexe Cu et 1,21 g/l pour le groupe témoin.

Aucune différence significative n'est apparente et toutes les valeurs se situent dans l'intervalle physiologique attendu pour le rat. Aucun composé n'induit d'hypoglycémie ni d'hyperglycémie aiguë, ce qui traduit une bonne tolérance métabolique immédiate.

1.2 Evaluation de la toxicité sub-chronique *in vivo*:

Les rats de chaque lot ont été suivis continuellement. Cette observation a été étendue le long de la durée d'étude de la toxicité sub-chronique (14 jours).

Tableau 2:La mortalité durant la période de d'administration quotidienne

La molécule	Mortalité	Latence de mortalité
Ligand	0 /3	non évaluée
Complexe de cuivre	0/3	non évaluée
Complexe de zinc	0/3	non évaluée

Par rapport à l'effet sur le poids corporel ; sur la période de 14 jours, tous les groupes ont pris du poids (Figure 10).

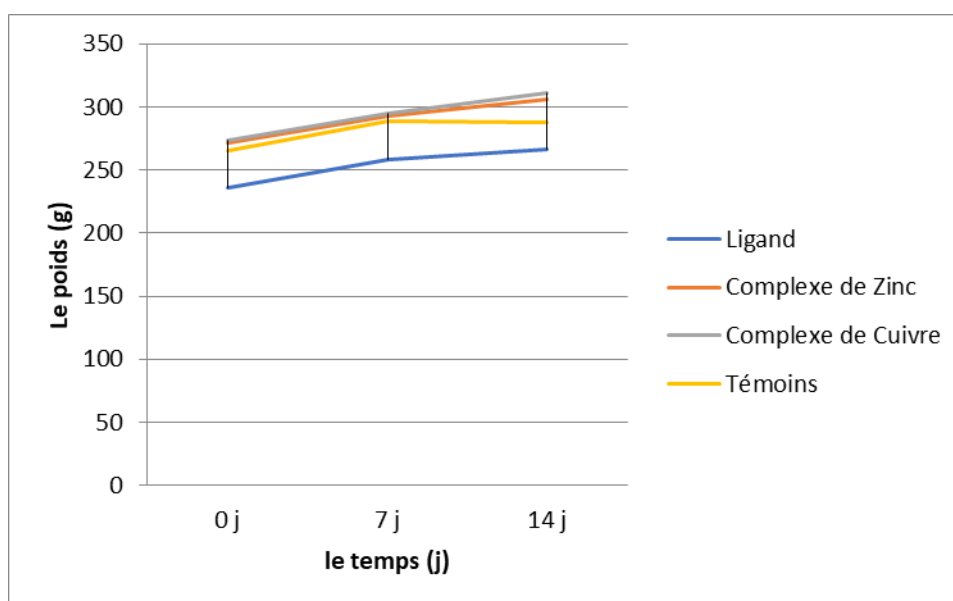


Figure 10:Evolution du poids des rats en gram durant la période d'étude

Les poids enregistrés sont de l'ordre de :

* Ligand : 235,7 → 258,7 → 266,3 g.

* Complexe Zn : 271,7 → 292,7 → 305,7 g.

* Complexe Cu : 273,7 → 294,3 → 311,3 g.

* Témoins : 265,3 → 289,0 → 288,0 g.

Les complexes métalliques montrent une légère supériorité en termes de prise de poids par rapport aux témoins, tandis que le ligand seul suit une courbe similaire à celle des témoins.

Ces données n'évoquent aucun effet toxique sur l'état général.

Les glycémies mesurées à la fin de l'étude sont dans les normes (Figure 11):

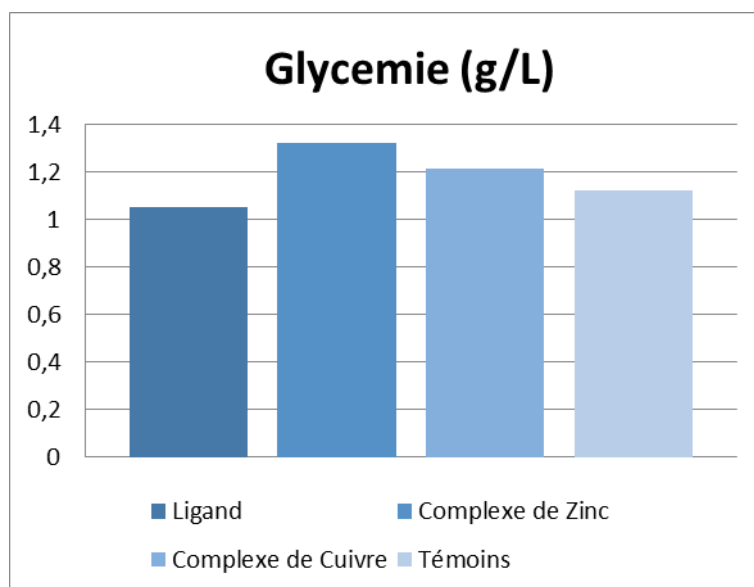


Figure 11: Effet des molécules testées sur la glycémie des rats

Les résultats montrent des valeurs de l'ordre de :

- Ligand : 1,05 g/l
- Zn: 1,32 g/l
- Cu: 1,22 g/l
- Témoins : 1,12 g/l

Le groupe traité par le complexe de zinc présente une glycémie légèrement plus élevée, mais celle-ci reste non pathologique. Aucun des traitements n'a induit d'effet diabétogène ou hypoglycémiant notable.

1.3 Etude de l'effet hémolytique (*in vitro*) :

L'hémolyse est un marqueur de toxicité membranaire : une molécule ou un complexe métallique destiné à un usage thérapeutique doit provoquer peu ou pas d'hémolyse. L'eau distillée, utilisée comme témoin positif, provoque une hémolyse totale que nous considérons comme référence à 100%.

1.3.1 Ligand :

Les pourcentages d'hémolyse calculés montrent des valeurs globalement faibles sur l'ensemble des concentrations testées (de 0,25 à 4 mg/mL).

Les moyennes des réplicats par concentration sont stables et ne révèlent pas de tendance dose-dépendante marquée. L'IC₅₀ évaluée pour le ligand est d'environ $15,6 \pm 0,05$ mg/mL.

En pratique, cela signifie que le ligand seul est faiblement hémolytique et présente une bonne innocuité vis-à-vis des membranes érythrocytaires.

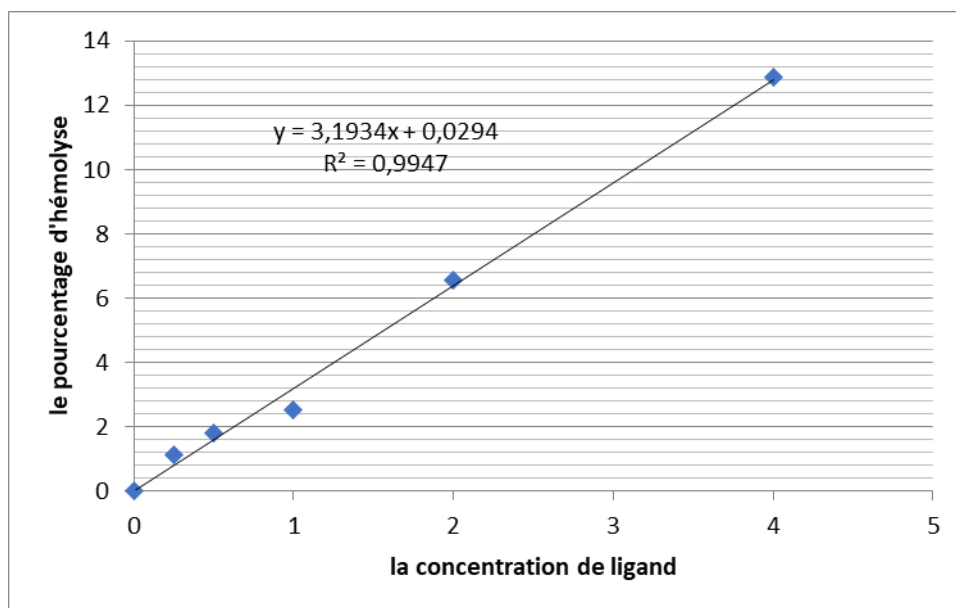


Figure 12: Variations des pourcentages d'hémolyse en fonction de concentration du ligand

1.3.2. Complexe de zinc :

Les données brutes sont un peu plus dispersées que pour le ligand, mais les valeurs observées à différentes concentrations traduisent une hémolyse très faible. L'IC₅₀ obtenue est de l'ordre de $45 \pm 7,58$ mg/mL.

Ainsi, le complexe de zinc semble encore moins hémolytique que le ligand.

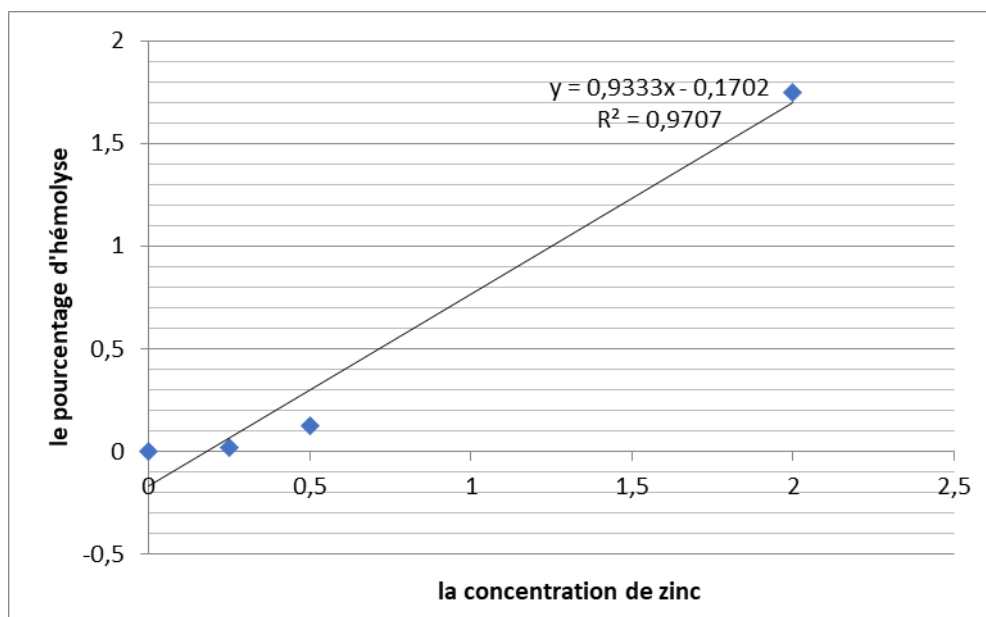


Figure 13: Variations des pourcentages d'hémolyse en fonction de concentration du zinc

1.3.3. Complexe de cuivre :

Les mesures brutes sont plus hétérogènes. L'IC₅₀ déterminée égale à 233 ± 41 mg/mL. Cela indique que le complexe de cuivre est extrêmement peu hémolytique.

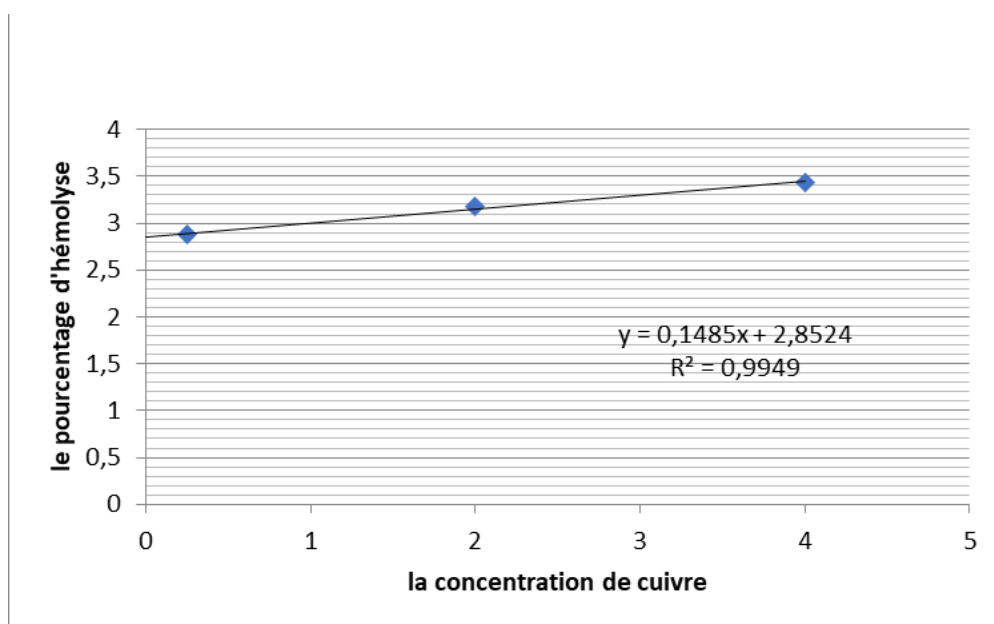


Figure 14: Variations des pourcentages d'hémolyse en fonction de concentration du cuivre

2. Discussion:

L'objectif de cette étude était d'évaluer la toxicité préclinique d'un ligand seul et de ses complexes de cuivre et de zinc, à travers des tests d'hémolyse *in vitro* et des études de toxicité aiguë et sub-chronique *in vivo* chez le rat. Dans l'ensemble, les trois composés montrent un profil de tolérance très encourageant.

2.1. Activité hémolytique

L'hémolyse est un marqueur majeur de toxicité membranaire : un composé destiné à un usage thérapeutique systémique doit provoquer peu ou pas d'hémolyse. Dans notre étude, le ligand seul présente une CI_{50} d'environ 15,6 mg/mL, ce qui est très élevé. Les complexes de zinc et de cuivre sont encore moins hémolytiques, avec des CI_{50} moyennes respectives de 45 mg/mL et 233 mg/mL. Ces résultats indiquent que les trois composés sont compatibles avec les membranes érythrocytaires.

Ces observations sont en accord avec les travaux de **(Dimitrova et al. 1987)**, qui ont rapporté que les complexes de cuivre (II) avec différents ligands présentent un effet hémolytique faible sur les érythrocytes de rat, avec une relation dose-dépendante. De même, **(Abou El-Reash et al. 2024)** ont montré que les complexes de Zn(II) et d'autres métaux de transition induisent une hémolyse négligeable aux concentrations thérapeutiquement actives, confirmant ainsi la bonne tolérance membranaire de ces complexes métalliques. Nos résultats vont dans le même sens : l'ordre d'innocuité observé est $\text{Cu} > \text{Zn} > \text{ligand}$, ce qui suggère que la complexation métallique tend à réduire encore davantage l'effet hémolytique par rapport au ligand seul.

2.2. Toxicité aiguë *in vivo*

L'administration unique des composés n'a provoqué aucune mortalité, aucun signe anormal, ni variation significative de la glycémie ou du poids corporel pendant les 14 jours suivant l'injection. Tous les groupes ont présenté une prise de poids normale, comparable à celle des témoins. Ces données indiquent que le ligand, le complexe de zinc et le complexe de cuivre sont bien tolérés à court terme et à la dose testée.

Ces résultats sont conformes aux lignes directrices de l'OCDE pour les tests de toxicité aiguë **(OECD, 2001)**, qui considèrent qu'une molécule est non toxique lorsqu'aucune mortalité ni signe clinique sévère n'est observé à la dose testée.

2.3. Toxicité sub-chronique

Sur la période de 14 jours, tous les groupes ont continué à prendre du poids normalement. Les complexes métalliques ont même montré une légère supériorité en termes de gain pondéral par rapport aux témoins, sans toutefois atteindre un niveau pathologique. Les glycémies mesurées en fin d'étude restent dans les normes physiologiques pour toutes les conditions expérimentales.

(Abou El-Reash et al. 2024) ont également rapporté que les complexes de Zn(II) n'altèrent pas les paramètres métaboliques de base chez l'animal, même après administration répétée. Dans notre étude, le groupe traité par le complexe de zinc présente certes une glycémie légèrement plus élevée (1,32 mmol/L contre 1,12 chez les témoins), mais cette valeur reste dans l'intervalle physiologique du rat et ne suggère aucun effet diabétogène.

2.4. Limites et perspectives

Malgré la convergence des résultats vers une bonne tolérance, certaines limites doivent être soulignées. Les IC_{50} du complexe de cuivre présentent une variabilité importante (écart-type élevé), ce qui pourrait être lié à une sensibilité plus grande du cuivre aux conditions expérimentales (pH, température, oxydation). (**Dimitrova et al. 1987**) avaient déjà noté que l'effet hémolytique des complexes de cuivre peut varier selon la nature du ligand et les conditions du test. Il serait donc utile de multiplier les réplicats et de standardiser davantage les conditions expérimentales.

Par ailleurs, la durée de l'étude chronique (14 jours) est relativement courte. Une étude plus longue (3 mois) serait nécessaire pour détecter d'éventuels effets d'accumulation, comme le recommandent les lignes directrices de l'OCDE (OECD, 2018). Enfin, l'exploration d'autres paramètres (transaminases hépatiques, marqueurs rénaux, histologie) constituerait un complément utile pour confirmer l'absence totale de toxicité subchronique.

Conclusion générale

Les résultats obtenus montrent que le ligand et ses complexes métalliques de zinc et de cuivre présentent un profil de sécurité très favorable. L'évaluation de l'activité hémolytique n'a révélé aucune hémolyse significative aux concentrations actives testées. Les valeurs de CI_{50} , particulièrement élevées (15,6 mg/mL pour le ligand, 45 mg/mL pour le complexe de zinc et 233 mg/mL pour le complexe de cuivre), témoignent d'une excellente compatibilité avec les membranes érythrocytaires, le complexe de cuivre étant le composé le plus sûr, suivi du complexe de zinc puis du ligand. Par ailleurs, l'étude de toxicité aiguë menée sur une période de 14 jours n'a mis en évidence aucune mortalité, aucun signe clinique de toxicité ni aucune modification significative de la glycémie ou du poids corporel, indiquant une bonne tolérance après administration unique.

De même, l'étude de toxicité chronique a montré une évolution normale du poids des animaux, avec une légère augmentation chez les groupes traités par les complexes métalliques, tandis que les glycémies sont demeurées dans les limites physiologiques. Aucun effet diabétogène ni aucune toxicité systémique n'ont été observés.

Dans les conditions expérimentales de cette étude, le ligand ainsi que ses complexes de zinc et de cuivre peuvent donc être considérés comme faiblement toxiques, non hémolytiques et bien tolérés, sans impact délétère sur le métabolisme glucidique ou la croissance pondérale des rats.

Les résultats obtenus dans cette étude ouvrent plusieurs perspectives de recherche. Il serait pertinent d'approfondir

- Réaliser des études de toxicité subchronique et chronique sur des périodes plus longues.
- Étudier les propriétés pharmacocinétiques (absorption, distribution, métabolisme et excrétion).
- Explorer les mécanismes moléculaires impliqués dans leurs activités biologiques.
- Évaluer l'activité antioxydante *in vivo*.
- Approfondir l'étude de l'activité antimicrobienne sur un plus grand nombre de souches microbiennes, y compris des souches multirésistantes.
- Étudier d'éventuels effets anti-inflammatoires ou antidiabétiques.

Références bibliographiques

- Abou El-Reash, Y. G., Al-Farraj, E. S., Adam, F. A., El-Moneim, A. A., & Abu El-Reash, G. M. (2024). Bleomycin-dependent DNA damage, erythrocyte hemolysis, antitumor MTT assay, and antimicrobial activity studies for Cd (II), Mn (II), Zn (II), Cr (III), and Fe (III) complexes of a multidentate carbohydrazone ligand. *Applied Organometallic Chemistry*, 38, e7539.
- Bakar AFA, Hadariah Bahron, Karimah Kassim, Mazatulikhma Mat Zain (2011). Synthesis, Characterization and Neurotoxic Effect of Schiff Base Ligands and Their Complexes.
- Ahsan, M. J. (2022). Design, synthesis and biological evaluation of novel Schiff base derivatives as potential antimicrobial agents. *Bioorganic Chemistry*, 118, 105478.
- Al Zoubi, W. (2013). Biological Activities of Schiff Bases and Their Complexes: A Review of Recent Works. *International Journal of Organic Chemistry*.
- Basolo, F., & Johnson, R.C. (1964). Coordination chemistry: the chemistry of metal complexes. W. A. Benjamin.
- Baud F. & Garnier R. (2017). Toxicologie clinique (6e éd.). Lavoisier, Paris.
- Boulila, N., & Iratni, F.D. (2021). Etude de la toxicité aiguë du Voliam Tar-go® sur le tissu mammaire des lapines nullipares de souche synthétique (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Chiboub Fellah, F.Z. (2008). Synthèse et détermination structurale de complexes de métaux de transition et d'entités 3d-4f (Thèse, Université Toulouse III).
- Cotton, A.F., Wilkinson, G., Bochmann, M., & Murillo, C.A. (1999). Advanced inorganic chemistry. Wiley.
- Derafa, W. (2014). Synthèse de nouveaux complexes de base de Schiff de métaux de transition non symétriques... (Thèse).
- Dermeche, K. (2023). Polycopié de cours "Pharmacologie & Toxicologie".
- Dimitrova, D., Radonova, N., Ivancheva, E., & Russanov, E. (1987). The hemolytic effect of copper complexes with different ligands. *Acta Physiologica et Pharmacologica Bulgarica*, 13(2), 48-53.
- Duffus, J.H., & Thomas, J. (Eds.) (2014). Toxicology and risk assessment: A comprehensive introduction. Springer.
- Ejaz, A.A., Johnson, R.J., Shimada, M., et al. (2019). The Role of Uric Acid in Acute Kidney Injury. *Nephron*, 142(4), 275–283.

- El-Khateeb, M. (2020). Schiff bases and their metal complexes: synthesis, characterization and biological applications. *Journal of Coordination Chemistry*, 73(12), 1743-1768.
- Fasina T.M., Ogundele O., & Ejiah F.N. (2012). Biological activity of copper (II), cobalt(II) and Nickel (II) complexes of Schiff base... *International Journal of Biological Chemistry*, 6(1).
- Flesch G., Brunel P., & Meno-Tetang G. (2016). Voyage au cœur de la relation dose-réponse du médicament. Edition Sciences, France.
- Frank C. Lu (1991). *Toxicologie*. Masson, Paris.
- H. Schiff (1864). Mittheilungen aus dem Universitätslaboratorium in Pisa: eine neue Reihe organischer Basen. *European Journal of Organic Chemistry*, 131, 118-119.
- Hajrezaie, M., Golbabapour, S., Hassandarvish, P., et al. (2012). Acute Toxicity and Gastroprotection Studies of a New Schiff Base Derived Copper (II) Complex... *PLoS ONE*, 7, e51537.
- Hamilton, K. J. (1991). Metal complexes of Schiff bases: a review of their pharmacological and toxicological properties. *Coordination Chemistry Reviews*, 110(1), 1-36.
- Hodgson, E. (2010). *A TEXTBOOK OF MODERN TOXICOLOGY*. Hoboken, New Jersey.
- Holm, R., & O'connor, M. (1971). The stereochemistry of bis-chelate metal (II) complexes. *Progress in Inorganic Chemistry*, 14, 241-401.
- Issaadi, S., Haffar, D., Douadi, T., et al. (2005). Synthesis, Characterization, and Electrochemical Study of Complexes... *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Nano-Met. Chem.*, 35, 875-882.
- Jain, S., & Shalini. (2015). Schiff bases and their metal complexes as potential therapeutic agents: a review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 6(2), 175-192.
- Klaassen, C. D., Watkins, J. B., & Normen, M. (2013). *Casarett & Doull's toxicology: The basic science of poisons* (8th ed.). McGraw-Hill Education.
- Kraicheva, I., Vodenicharova, E., Shivachev, B., et al. (2013). Anthracene-Delivered Bis-Aminophosphonates... *Phosphorus Sulfur Silicon*, 188, 1535-1547.

- Kumari, M., Sangwan, V., & Arpna (2025). Antimicrobial, Pharmacokinetic and Semi-empirical Study of Some Schiff base Metal Complexes. *Orient. J. Chem.*, 41, 647-653.
- Lee J.Y., C. P. (2002). Hemolytic activity and developmental expression of pore – forming peptide. *Res. Commun*, 296, 1238-1244.
- M. Mesbah, T. Douadi, F. Sahli, et al. (2018). Synthesis, characterization... of three new Schiff bases... *J. Mol. Struct.*, 1151, 41-48.
- Malakyan, M., Babayan, N., Grigoryan, R., et al. (2016). Synthesis, characterization and toxicity studies of pyridinecarboxaldehyde and L-tryptophan derived Schiff bases... *F1000Research*, 5, 1921.
- Mohamed, G.G., Zayed, E.M., Hindy, A.M., & Ahmed, M.M. (2015). Coordination behavior of new bis Schiff base ligand... *Spectrochim. Acta A*, 145, 76-84.
- Mugherli, L. (2006). Microarrays fonctionnels de gouttes : de la synthèse chimique combinatoire au criblage de molécules bioactives (Thèse, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- Noisel, N., Bonvallot, N., & Coumoul, X. (2023). Chapitre 11. Toxicologie. In *Environnement et santé publique. Fondements et pratiques* (pp. 277-304). Rennes, Presses de l'EHESP.
- Oecd. (2001). Test No. 423: Acute oral toxicity – Acute toxic class method. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publishing.
- Oecd. (2018). Test No. 452: Chronic toxicity studies. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD Publishing.
- Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) (2019). Test Guideline No.431... Section 4 Health effects.
- Ouari, K. (2014). Synthèse de ligands bases de Schiff tétradentates non symétriques... (Thèse).
- Orlandi, M., Rindone, B., Molteni, G., et al. (2001). Asymmetric biomimetic oxidations of phenols... *Tetrahedron*, 57, 371-378.
- R. Abdul (2005). Synthesis and biological studies of some Schiff base compounds and their transition metal complexes (Doctoral dissertation, Bahauddin Zakariya University Multan).
- Ruckebusch, Y. (1981). *Physiologie, Pharmacologie, Thérapeutiques animales*. Paris.

- Shakir, M., Abbasi, A., Azam, M., & Khan, A.U. (2011). Synthesis, spectroscopic studies and crystal structure of the Schiff base ligand L... *Spectrochim. Acta A*, 79, 1866-1875.
- Strecker, A. (1850). Ueber die künstliche Bildung der Milchsäure... *European Journal of Organic Chemistry*, 75, 27-45.
- Thakur, S., Singh, H., Sharma, S., Kaur, M., Singh, A., Kaur, A., & Jain, S. K. (2024). Pre-clinical and cellular safety assessment of oral administered DHA rich microalgae oil from *Schizochytrium* sp. (Strain ATCC-20889): acute, sub-chronic and genotoxicity. *Drug and Chemical Toxicology*, 47(6), 876-888.
- Thangadurai, T.D., & Natarajan, K. (2002). Antibacterial activity of ruthenium (II) carbonyl complexes... *Transition metal chemistry*, 27, 485-489.
- Yeh, R. M., & Lim, J. M. (2007). Enhanced biological activity of copper(II) and zinc(II) Schiff base complexes: role of lipophilicity and reactive oxygen species. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 101(8), 1123-1130.

Webographie :

- <https://www.cnesst.gouv.qc.ca/sites/default/files/documents/notions-de-toxicologie.pdf>

ملخص

تُعد قواعد شيف ومعدناتها المعدنية مركبات ذات أهمية علاجية كبيرة، إلا أن تقييمهما السمي قبل السريري يظل خطوة حاسمة قبل أي تطبيق سريري. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم السمية المحتملة لليكاند من قواعد شيف ومعدناته من النحاس والزنك. ولتحقيق ذلك، تم إجراء مجموعة من الاختبارات شملت دراسات السمية الحادة والمزمنة داخل الجسم (*in vivo*) على جرذان من سلالة ويستار، بالإضافة إلى اختبار التحلل الدموي خارج الجسم (*in vitro*) على خلايا الدم الحمراء البشرية. لم يؤد إعطاء جرعات مفردة (500 ملغ/كغ) لتقييم السمية الحادة وجرعات متكررة (100 ملغ/كغ) لتقييم السمية المزمنة إلى حدوث أي وفيات، أو علامات سمية، أو تغيرات ملحوظة في وزن الجسم أو مستوى السكر في الدم لدى الجرذان المعالجة. علاوة على ذلك، أظهرت اختبارات التحلل الدموي توافقاً حيوياً ممتازاً للمركبات الثلاثة مع أغشية الكريات الحمراء، مع قيم IC_{50} مرتفعة جداً، تتجاوز 15 ملغ/مل لليكاند، و45 ملغ/مل لمعقد الزنك، و233 ملغ/مل لمعقد النحاس. تشير نتائجنا إلى أن الليكاند ومعدناته المعدنية تظهر ملف سمية منخفضاً جداً في ظل الظروف التجريبية التي تم اختبارها. إن هذا الغياب للسمية الحادة، والمزمنة، والتحليلية يوحي بأن هذه الجزيئات قد تشكل مرشحات واعدة للتطوير العلاجي في المستقبل.

الكلمات المفتاحية: قواعد شيف، معدنات النحاس المعدنية، معدنات الزنك المعدنية، السمية الحادة، السمية المزمنة، التحلل الدموي.

Résumé :

Les bases de Schiff et leurs complexes métalliques sont des composés d'un grand intérêt thérapeutique, mais leur évaluation toxicologique préclinique reste une étape cruciale avant toute application clinique. La présente étude vise à évaluer la toxicité potentielle d'un ligand base de Schiff et de ses complexes de cuivre et de zinc. Pour ce faire, une batterie de tests a été réalisée, incluant des études de toxicité aiguë et chronique *in vivo* sur des rats Wistar, ainsi qu'un test d'hémolyse *in vitro* sur des globules rouges humains. L'administration de doses uniques (500 mg/kg) pour la toxicité aiguë et répétées (100 mg/kg) pour la toxicité chronique n'a provoqué aucune mortalité, ni signe de toxicité, ni modification significative du poids corporel ou de la glycémie chez les rats traités. Par ailleurs, les tests d'hémolyse ont montré une excellente biocompatibilité des trois composés avec les membranes érythrocytaires, avec des CI_{50} très élevées, dépassant 15 mg/mL pour le ligand, 45 mg/mL pour le complexe de zinc et 233 mg/mL pour le complexe de cuivre. Nos résultats indiquent que le ligand et ses complexes métalliques présentent un profil de toxicité très faible dans les conditions expérimentales testées. Cette absence de toxicité aiguë, chronique et hémolytique suggère que ces molécules pourraient constituer des candidats prometteurs pour un développement thérapeutique futur.

Mots clés : Bases de Schiff, complexes métalliques de cuivre, complexes métalliques de zinc, toxicité aiguë, toxicité chronique, hémolyse.

Abstract

Schiff bases and their metal complexes are compounds of great therapeutic interest, but their preclinical toxicological evaluation remains a crucial step before any clinical application. The present study aims to evaluate the potential toxicity of a Schiff base ligand and its copper and zinc complexes. To achieve this, a battery of tests was carried out, including *in vivo* acute and chronic toxicity studies on Wistar rats, as well as an *in vitro* hemolysis test on human red blood cells.

The administration of single doses (500 mg/kg) for acute toxicity and repeated doses (100 mg/kg) for chronic toxicity caused no mortality, signs of toxicity, or significant changes in body weight or blood glucose levels in the treated rats. Furthermore, hemolysis tests showed excellent biocompatibility of the three compounds with erythrocyte membranes, with very high IC_{50} values exceeding 15 mg/mL for the ligand, 45 mg/mL for the zinc complex, and 233 mg/mL for the copper complex.

Our results indicate that the ligand and its metal complexes exhibit a very low toxicity profile under the tested experimental conditions. This absence of acute, chronic, and hemolytic toxicity suggests that these molecules could be promising candidates for future therapeutic development.

Keywords: Schiff bases, copper metal complexes, zinc metal complexes, acute toxicity, chronic toxicity, hemolysis.