

RÉPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail - Patrie

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE

DÉPARTEMENT DE CHIMIE



REPUBLIC OF CAMEROON

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I

HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

LABORATOIRE DE CHIMIE INORGANIQUE APPLIQUÉE DE L'UNIVERSITÉ
DE YAOUNDÉ I, FACULTÉ DES SCIENCES.

*LABORATORY OF APPLIED INORGANIC CHEMISTRY OF UNIVERSTIY OF
YAOUNDE I, FACULTY OF SCIENCES*

**Synthèse, Caractérisation et Étude des
Propriétés Antimicrobiennes d'un Complexe
de Cuivre(II) avec l'Hexaméthylènetétramine.**

*Mémoire présenté et soutenu en exigences des conditions requises pour l'obtention du
Diplôme de Professeur de l'Enseignement Secondaire 2^{ème} Grade (D.I.P.E.S. II)*

Par :

MANEGUIM TAMEZE Natacha Dolores

Matricule : 10T0877

Licenciée en chimie

Sous la direction de :

AGWARA Moïse ONDOH, Ph.D

Maître de Conférences

Année 2016

CERTIFICATION

Je soussigné, Pr AGWARA Moise ONDOH, certifie que les travaux effectués par l'étudiante MANEGUIM TAMEZE Natacha Dolores, matricule 10T0877, portant sur LA SYNTHÈSE, CARACTÉRISATION ET ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS ANTIMICROBIENNES D'UN COMPLEXE DE CUIVRE(II) AVEC L'HEXAMÉTHYLÈNETÉRAMINE, sont ses propres travaux et ont été faits sous ma supervision au Laboratoire de Chimie de coordination de l'Université de Yaoundé I.

Fait à Yaoundé le

L'ENCADREUR

DÉDICACES

Je dédie ce mémoire à :

- **Papa TSAFACK Jean**
- **Toute ma famille**

REMERCIEMENTS

Au terme de ce mémoire, je tiens à remercier tout particulièrement :

- Mon directeur de mémoire le Pr AGWARA Moise ONDOH Maître de conférence à l'université de Yaoundé I, qui m'a proposé ce sujet et qui n'a ménagé aucun effort dans le suivi de ce travail. Je lui suis reconnaissante et lui exprime ma profonde gratitude.
- Le Chef de Département de Chimie de l'école normale supérieure de Yaoundé, le Pr. Charles FON ABI pour l'intérêt qu'il accorde à la formation des étudiants.
- Le Dr YUFANYI Divine MBOM pour tout son soutien, sa grande disponibilité et pour tous les conseils qu'il m'a prodigués durant la rédaction de ce mémoire.
- Les enseignants de l'école normale supérieure de Yaoundé et en particulier ceux du Département de Chimie pour leurs conseils, leurs encouragements.
- Mes aînés de laboratoires NKUENKONG Wilfried, AMAH Collette, NGOUNOUE Francis, DJUIKOM Yanick, TABONG Dieudonné, pour leur assistance, leurs suggestions et conseils pratiques qui ont contribué à l'amélioration de ce travail.
- Tous mes camarades de promotion pour leurs nombreuses suggestions. Je pense à MEWADJOU Odile, KENGNE Nelly, MAKOU DJOU Doloresse, NJANKO Georges, MAREDAMOUN Binta, NGOUENAM Fernand, MOUNTOUNNJOU Olivier.
- Mes frères et sœurs VOKENG Clovis, KIEUEM Bienvenu, DONFACK Livie, LIJIEUEM Dominique, AZEUGO Murielle, TSAFACK Sandrine, KENFACK Joëlle pour leur soutien et leur amour.
- Mes amis TEFION Evodie, KAMENI Peguy, NGABIAPSI Guylaine, KAMSU Calorine, DONGMO William pour leurs encouragements et leurs conseils.
- Tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail et donc les noms ne sont pas mentionnés plus haut. Qu'ils reçoivent l'expression de ma profonde gratitude.

TABLE DE MATIÈRES

CERTIFICATION	i
DÉDICACES	ii
REMERCIEMENTS	iii
TABLE DE MATIÈRES	iv
RÉSUMÉ	vi
ABSTRACT	vii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	viii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES TABLEAUX	x
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPÎTRE 1 : REVUE DE LA LITTÉRATURE	3
1.1. HISTORIQUE ET MOTIVATION	3
1.2. CHIMIE DU CUIVRE(II).....	4
1.3. CHIMIE DU LIGAND.....	5
1.3.1 Généralités sur les amines.....	5
1.3.2 Hexaméthylènetétramine	6
1.3.3- Activités antimicrobiennes de quelques complexes métalliques de l'hexaméthylènetétramine	8
1.4. MICROORGANISMES.....	8
1.5. PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS VISÉS.....	10
1.5.1 Problématique	10
1.5.2 But et objectifs spécifiques	10
CHAPÎTRE 2: PARTIE EXPÉRIMENTALE	11
2.1. RÉACTIFS	11
2.1.1. Sel métallique.....	11
2.1.2. Ligand	11
2.2. SYNTHÈSE	11
2.3. MESURE DU POINT DE FUSION	11
2.4. TEST DE SOLUBILITÉ.....	11
2.5. SPECTROSCOPIE INFRAROUGE (IR).....	12
2.6. SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE	12
2.7. MESURE DE LA CONDUCTIVITÉ	12
2.8. ANALYSES QUANTITATIVES	12

2.8.1	Préparation des solutions	12
2.8.2	Dosage des ions métalliques	13
2.9.	ANALYSE ÉLÉMENTAIRE	14
2.10.	ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES	14
2.10.1	Principe	14
2.10.2	Souches microbiennes utilisées.....	14
2.10.3	Méthodes.....	15
CHAPITRE 3: RÉSULTATS ET DISCUSSION		17
3.1.	SYNTHÈSE DU COMPLEXE DE CUIVRE.....	17
3.2.	POINT DE FUSION	17
3.3.	TEST DE SOLUBILITÉ.....	18
3.4.	SPECTRE INFRAROUGE (IR)	18
3.5.	SPECTRE ULTRAVIOLET-VISIBLE	19
3.6.	DÉTERMINATION DE LA CONDUCTIVITÉ	20
3.7.	DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN ION CUIVRE	21
3.8.	ANALYSE ÉLÉMENTAIRE	23
3.9.	MISE EN ÉVIDENCE DES IONS NITRATES.....	23
3.10.	PROPOSITION DE LA STRUCTURE DU COMPLEXE SYNTHÉTISÉ.....	23
3.11.	ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES	24
INTÉRÊTS PÉDAGOGIQUES.....		27
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES		27
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		27

RÉSUMÉ

Le but de ce travail était de synthétiser, caractériser puis étudier les propriétés antimicrobiennes d'un complexe de cuivre(II) avec l'hexaméthylènetétramine. Ce complexe, de formule brute $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{HMTA})_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, a été synthétisé dans le mélange éthanol/eau à température ambiante suivant les proportions 1:2 (métal-ligand) avec un rendement de 73 %. Il a été caractérisé par des techniques telles que le point de fusion, le test de solubilité, la spectroscopie IR, la spectroscopie UV-Visible, la conductimétrie et l'analyse élémentaire.

La mesure du point de fusion a montré que le complexe est stable à haute température et a un point de fusion supérieur à 360 °C (limite de l'appareil). Il est soluble dans les solvants à grande constante diélectrique, ce qui permet d'affirmer qu'il est ionique en solution aqueuse. La spectroscopie IR a révélé la présence de la liaison métal- ligand dans le complexe tandis que la spectroscopie UV-Visible a mis en évidence la transition ${}^2\text{E}_g \rightarrow {}^2\text{T}_{2g}$, ce qui a permis de prévoir la géométrie octaédrique pour le complexe. La conductivité molaire a confirmé son caractère ionique en solution. L'analyse élémentaire a donné les différents pourcentages des éléments C, H, N (22.9, 6.93, et 21.32 respectivement). Sur la base de toutes ces analyses et avec l'aide de la littérature, la structure du complexe a été proposée.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne effectuée sur quatre souches bactérienne et sur quatre levures a révélé que le complexe est actif contre la bactérie *Staphylococcus aureus* et contre la levure *Candida krusei* mais cette activité antimicrobienne est inférieure à celle des antibiotiques de référence (Chloramphenicol et Fluconazole).

MOTS CLES : Complexe, cuivre(II), hexaméthylènetétramine, activité, antimicrobienne.

ABSTRACT

The aim of this work was to synthesize, characterize and study the antimicrobial properties of the copper(II)-hexamethylenetetramine complex. This complex, of empirical formula $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{HMTA})_2(\text{NO}_3)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ was synthesized in ethanol/water mixture at room temperature in a 1:2 (metal-ligand) ratio with a yield of 73 %. It was characterized by experimental techniques such as melting point, solubility test, IR and UV-Visible spectroscopy, conductimetry and elemental analysis.

The measurement of melting point has showed that the complex is stable at high temperature and has a melting point higher than 360°C (limit of apparatus). It is soluble in solvents with high dielectric constant indicating that it may be probably be ionic in aqueous solution. IR spectroscopy has revealed the presence of metal-ligand bond in the complex while UV-Visible put into evidence the transition ${}^2\text{E}_g \rightarrow {}^2\text{T}_{2g}$ suggesting octahedral structure for the complex. The molar conductivity has confirmed the ionic character of the precursor in solution. The elemental analysis has given the percentage of C, H, N (22.9, 6.93, and 21.32 respectively) in complex. On the basis of all these analysis and with assistance of literature, the structure of the Cu-HMTA has been proposed.

The antimicrobial screening performed on four bacterial stocks and four yeasts revealed that the complex is active against one bacteria *staphylococcus aureus* and against one fungi *Candidakrusei* but this antimicrobial activity is lower than the reference antimicrobial (Chloramphenicole and Fluconazole).

KEYWORDS: Complex, Copper(II), Hexamethylenetetramine, Activity, Antimicrobial.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

HMTA	:	Hexaméthylènetétramine.
Cu-HMTA	:	Complexe de cuivre(II) avec l'HMTA
RDX	:	1, 3, 5-trinitro-1, 3, 5-triazacyclooctane.
HMX	:	1, 3, 5, 7-tetranitro-1, 3, 5, 7-tetraazacyclohexane.
DZI	:	Diamètre de zone d'inhibition.
SE	:	<i>Salmonella enterica</i> NR13555
SF	:	<i>Shigella flexneri</i> NR518
EC	:	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922;
SA	:	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 7625
CA	:	<i>Candida albicans</i> NR-29450
CK	:	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258
CP	:	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019
CN	:	<i>Cryptococcus neoformans</i>
CHL	:	Chloramphenicol
FLC	:	Fluconazole

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les classes d'amines.....	5
Figure 2 : Structure de l'hexaméthylènetétramine.....	6
Figure 3 : Spectres infrarouge du complexe et du ligand superposés.....	19
Figure 4 : Spectre ultraviolet- visible du complexe de cuivre(II).....	20
Figure 5 : Structure du complexe Cuivre(II) - Hexaméthylènetétramine.....	23
Figure 6 : Graphique représentant les activités antimicrobiennes de quelques composés sur quelques Souches de bactéries.	26
Figure 7 : Graphique représentant les activités antimicrobiennes de quelques composés sur quelques souches de levures.	26

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Quelques maladies causées par les microorganismes et agents antimicrobiens...	9
Tableau 2: Propriétés physiques du ligand et du complexe.....	17
Tableau 3: Solubilité du complexe	18
Tableau 4: Bandes IR caractéristiques de l' HMTA et du complexe Cu-HMTA.	19
Tableau 5: Détermination de la conductance molaire	21
Tableau 6: Relation entre la conductivité molaire et le nombre d'ions en solution aqueuse (Blazevic et al 1979).	21
Tableau 7: Pourcentages expérimental et théorique du complexe	22
Tableau 8: Analyse élémentaire du complexe de Cu	23
Tableau 9: Diamètre des zones d'inhibition des composés testés.....	25

**INTRODUCTION
GÉNÉRALE**

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'homme est un être constitué d'un système biologique très complexe et continuellement exposé aux infections. Cette vulnérabilité se manifeste par des maladies telles que la syphilis, la tuberculose, l'hypertension, le cancer pour ne citer que ceux-là. Dans le but de lutter contre ces maladies, bon nombre de chercheurs se sont lancés dans la synthèse d'agents chimio-thérapeutiques ayant des activités biologiques importantes à l'instar la Tryparsamide (Antimicrobien), l'Auranofine (Anti-arthrosique) (Alma *et al.* 2009).

De nos jours, ces agents chimio thérapeutiques perdent graduellement leur efficacité d'action du fait des résistances que développent les micro-organismes pathogènes dans l'organisme humain (Khanam *et al.* 2006). L'on assiste ainsi à une recrudescence de nouvelles maladies entraînant ainsi un réel problème de santé publique. C'est le cas du VIH, du virus EBOLA. Les stratégies couramment explorées pour contrer ce problème consistent à la modification de la structure des antimicrobiens existants où les résistances ont été observées et le développement de nouvelles classes d'agents antimicrobiens (Degagsa *et al.* 2013). C'est ainsi que, plusieurs chercheurs se sont lancés avec un grand intérêt dans la synthèse de complexes de métaux de transition ayant des propriétés thérapeutiques notables. (Vaibhavn *et al.* 2011).

Il est intéressant de noter que la médecine utilise des métaux depuis plus de 5000 ans. Dans le passé, entre 3000 et 1500 ans av. J.-C, les Egyptiens utilisaient déjà le cuivre pour stériliser l'eau et le zinc pour améliorer la cicatrisation des blessures (Orvig & Abrams 1999).

L'essor de la Chimie Inorganique médicinale est récent avec la découverte des activités anticancéreuses du cis-platine considéré comme le chef de file des métallo-drogues. De nombreux complexes ont été étudiés pour leurs potentiels en thérapie et pour leurs utilisations en diagnostic. Nous pouvons citer entre autre les complexes de Bismuth(III) utilisés dans le traitement de la syphilis et les complexes de cuivre(II) qui présentent un effet inhibiteur sur le développement du VIH/SIDA (Wai-Yin *et al.* 2007).

Par ailleurs, les éléments métalliques sont indispensables pour le fonctionnement harmonieux des organismes vivants (animaux et végétaux). Ils interviennent dans la catalyse, l'expression génétique et le transfert des électrons. Ils sont utilisés pour le maintien de la stabilité des molécules dans l'organisme (Orvig & Abrams 1999). Nous pouvons citer entre autre les ions Ni(II), Cu(II), Zn(II) qui étant les plus abondants du corps humains, sont des

composants structuraux d'un bon nombre d'enzymes (Mariakulandai *et al.* 2013). Ces ions constituants certains antibiotiques ont une grande activité antimicrobienne (Saeed-ur-Rehman *et al.* 2007). De même, les complexes de métaux de transition synthétisés avec comme ligand l'hexaméthylènetétramine sont très intéressants en chimie structurale, en catalyse et dans les fonctions biologiques. Dans le développement des médicaments antimicrobiens, ces complexes jouent un rôle sans cesse grandissant et possèdent des activités antibactériennes, antifongiques, antivirales et anticancéreuses notables (Degagsa *et al.* 2013).

Afin d'apporter une contribution significative dans la lutte contre les microorganismes qui nuisent à la santé humaine, ce travail de recherche a pour but de synthétiser puis caractériser un complexe de cuivre (II) avec l'hexaméthylènetétramine comme ligand puis étudier l'activité antimicrobienne de ce complexe face à plusieurs souches de microorganismes (bactéries et levures). Plus spécifiquement il sera question de :

- Synthétiser le complexe de Cu(II) avec l'hexaméthylènetétramine ;
- Caractériser le complexe obtenu par des méthodes telles : la spectroscopie infrarouge, la spectroscopie ultraviolet, la conductimétrie, la détermination du point de fusion, le test de solubilité, la teneur en ion métallique et l'analyse élémentaire.
- Tester l'activité antimicrobienne de ce complexe sur quelques souches de bactéries et de levures.

Le présent travail est ainsi divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à la revue de la littérature
- Le deuxième chapitre est consacré aux techniques expérimentales utilisées pour la synthèse et la caractérisation du complexe.
- Le troisième chapitre porte sur la discussion des résultats obtenus.
- Enfin, une conclusion qui récapitule l'essentiel du travail et les perspectives envisagées.

CHAPÎTRE 1 : REVUE DE LA LITTÉRATURE

1.1. HISTORIQUE ET MOTIVATION

L'homme depuis sa création a toujours été sujet à de nombreuses maladies créées par des microorganismes pathogènes tels que les champignons, les bactéries et virus. Dans le but de lutter contre ces derniers, l'homme a développé des agents chimio-thérapeutiques tels les antibiotiques avec pour objectif l'éradication de ses microbes qui nuisent à la santé humaine. C'est ainsi qu'en 1929, Alexander Fleming créa la pénicilline possédant des propriétés pour le traitement des infections bactériennes causées par les microorganismes tels staphylococcus et streptococci (Powers 2004). Au fil du temps, ses médicaments ont présenté des limites en termes de sûreté et d'efficacité (Scozzafava *et al.* 2003). De plus, ces agents pathogènes ont développé des résistances face aux antibiotiques dépassant toute espérance.

Avec les travaux de Georges Brandt qui marquent le début de la prise en considération de la chimie de coordination comme chimiothérapie, de nombreux chercheurs se sont lancés dans la synthèse de nouveaux composés organométalliques chimiquement actifs, inexploités de manière clinique afin de résoudre ses problèmes de résistances (Cuvier *et al.* 1841). Les stratégies couramment explorées pour contrer ce problème de résistance consistent à la modification de la structure des antimicrobiens existants où les résistances ont été observées et le développement de nouvelles classes d'agents antimicrobiens (Degasga *et al.* 2014). Dans cette lancée, Agwara *et al.* (2011) ont montré que le complexe de cobalt $[\text{Co}(\text{HMTA})_2(\text{NO}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ a fait preuve d'une plus grande activité face au microorganisme *Klebsiella pneumonia* comparé à l'antibiotique de référence *Gentamycin* (Agwara *et al.* 2011). De même, Degasga *et al.* (2014) ont montré que le complexe $[\text{Cu}(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4)_3(\text{H}_2\text{O})_3]\text{SO}_4$ synthétisé avec un solvant mixte eau-éthanol est actif contre quatre microorganismes : *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Ce complexe a présenté une plus grande activité contre *Staphylococcus aureus* et *Salmonella typhi* comparé à l'antibiotique de référence *Gentamycin* (Degasga *et al.* 2014). Il en ressort ainsi que les complexes de métaux de transition ont des propriétés qui permettent leur utilisation en tant qu'antibiotiques, agents antiviral et antitumeur (Iran 2008).

Face à la résistance des microorganismes aux antibiotiques et aux propriétés exceptionnelles des complexes de métaux de transition, il est urgent de synthétiser de nouveaux composés métalliques qui aideront à lutter de manière efficace contre les microorganismes.

1.2. CHIMIE DU CUIVRE(II)

Le cuivre est l'un des rares métaux qui existe à l'état natif (Bernard 1994). Il est naturellement présent dans la croûte terrestre et dans les océans, les lacs, les rivières sous différentes formes et concentrations. Il est majoritairement présent sous la forme de minerais et c'est d'ailleurs le meilleur conducteur de la chaleur et de l'électricité après l'argent (INERIS 2014).

Le cuivre de même que ses alliages ont plusieurs applications dans le domaine industriel. En effet, les produits à base de cuivre sont : les bandes et tôles, les barres et profilés, les câbles et fils à usage électrique, les cathodes de Cu à 99,999 %, les coussinets et bagues, les échangeurs thermiques, les toiles métalliques et les tubes. Le secteur électrique est le secteur industriel où l'on identifie la principale utilisation du cuivre pur. Il joue également un rôle important dans les technologies de communication. En effet, il est utilisé dans la transmission de données pour le service internet et les communications téléphoniques. Le cuivre, par sa durabilité et de sa malléabilité, est très utilisé dans les équipements industriels pour fabriquer des pales de turbines, des engrenages et des roulements. Il a la propriété de transférer la chaleur, et à cause de cette caractéristique, il est utilisé dans les équipements tels que les échangeurs thermiques, les cuves et les équipements sous pression (INERIS 2014).

L'étude de la chimie de coordination du cuivre(II) montre qu'il est paramagnétique (Walker 1980). Si le cuivre (I) préfère très largement être entouré par quatre ligands adoptant une géométrie tétraédrique, Le cuivre (II) adopte typiquement une géométrie de coordination plan carrée, parfois trigonal plan ou plan carrée avec deux ligands axiaux faiblement liés (octaédrique). La stabilité relative des complexes de cuivre (I) et de cuivre (II) en solution dépend très fortement des ligands présents et peut varier considérablement suivant le solvant (Bernard 1994).

Le cuivre (Cu) est un élément essentiel de la vie. Il constitue notamment le cofacteur des enzymes impliqués dans plusieurs processus tels que la respiration ou la suppression des espèces réactives de l'oxygène (Walker 1980). Le cuivre a la capacité de former des liaisons covalentes et prend part à de nombreux processus redox (Bremner 1998). Il agit activement comme stimulant de la chaleur grâce à ses propriétés enveloppantes et stimule ainsi les fonctions structurales. Les préparations à base de cuivre agissent sur les fonctions rénales en dirigeant les éliminations (Lundsgaar *et al.* 2004). C'est un oligo-élément vital aussi bien pour les végétaux que pour les animaux (Soatan *et al.* 2010). Un être humain adulte contient

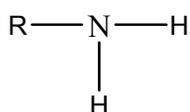
environ 100mg. Ce métal possède des propriétés antibactériennes notables (Lundsgaar *et al.* 2004). Toutefois les déficiences ou les excès de cuivre dans l'organisme sont associés à des manifestations cliniques bien spécifiques (Bremner 1998).

En effet, une carence en cuivre se traduit par des symptômes tels l'anémie, les faiblesses de défenses immunitaires, les maux de têtes, la diarrhée (Lundsgaar *et al.* 2004). Par contre un excès de cuivre dans le corps humain cause une instabilité émotionnelle, un état dépressif ou des nausées (Soatan *et al.* 2010). Enfin, le foie, le cacao, le jaune d'œuf, la levure de bière sont des sources alimentaires particulièrement riches en cuivre (Soatan *et al.* 2010).

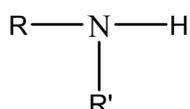
1.3. CHIMIE DU LIGAND

1.3.1 Généralités sur les amines

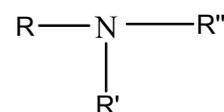
Les amines sont des composés organiques azotés, dérivant de l'ammoniac par remplacement d'un, deux ou de trois atomes d'hydrogènes par des groupes hydrocarbonés (alkyl, aryle) et désignés respectivement par amines primaires, secondaires ou tertiaires (Solomons 2006)



Amine primaire



Amine secondaire



Amine tertiaire

R, R', R'': Alkyl ou Aryle

Figure 1. Les classes d'amines.

Elles ont été découvertes en 1849 par le chimiste allemand Wurtz et furent initialement appelé alcaloïdes artificiels (Solomons 2006). Les propriétés chimiques caractéristiques des amines ainsi que leur réactivité sont essentiellement dues au doublet électrons libre présent sur l'atome d'azote qui confèrent aux amines leurs caractères nucléophile et basique. Elles peuvent facilement attaquer les centres actifs de faibles densités (sites déficitaires en électrons) tels que l'atome de carbone des groupes carbonyles et les ions de métaux de transition (Arnaud 1978, Ouahes 1988).

Certaines amines possèdent plusieurs atomes d'azote donneurs et sont appelés en chimie de coordination ligands polydentés (Lee 1991). C'est l'exemple de l'hexaméthylènetétramine HMTA $C_6H_{12}N_4$ qui possède 4 atomes d'azote donneurs.

1.3.2 Hexaméthylènetétramine

L'hexaméthylènetétramine (HMTA, $C_6H_{12}N_4$) est un composé organique hétérocyclique tétradenté possédant une structure cage de type adamantane représenté sur la figure ci-dessous : (Yufanyi *et al.* 2015).

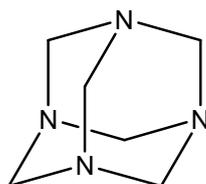
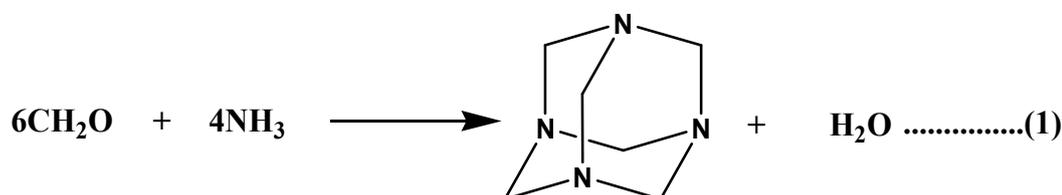


Figure 2. Structure de l'hexaméthylènetétramine

Il est encore connu sous le nom d'hexamine, urotropine, méthanimine, 1,3, 5,7-tétraazatricyclo [3.3.1.1]décane, 1,3,5,7-tétraazaadamantane, aminoforn ou formin (Blazevic *et al.* 1979). C'est une base organique moyennement forte possédant quatre potentiels atomes d'azote donneurs (Bernard 1994). L'hexamine pure est un solide cristallisé incolore, sans odeur avec un goût doux. Il est soluble dans l'eau, les alcools (éthanol), insoluble dans l'éther et dans les hydrocarbures aromatiques avec pour exception le chloroforme où il est moyennement soluble (Blazevic *et al.* 1979).

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour synthétiser ce produit. L'hexamine est le plus souvent formé par la réaction de condensation de l'ammoniac NH_3 avec le formaldéhyde CH_2O comme le montre l'équation :



Corter et Coxé ont également montré que l'hexamine peut être synthétisé en chauffant le chlorure de méthylène avec l'ammoniac en excès. L'hexamine est obtenu par extraction avec le trichlorométhane (Agwara 1986). De même, plauso a obtenu l'hexamine en chauffant un mélange de méthane et d'ammoniac (Agwara 1986).

L'HMTA obtenu est une amine tertiaire ayant une valeur de $pK_a = 4,89$ qui est proche de celle de la pyridine (Blazevic et al 1979). Normalement, l'hexamine n'existe pas sous forme hydratée mais il est possible de former l'hexahydrate $C_6H_{12}N_4 \cdot 6H_2O$ en refroidissant à une température un peu au-dessus de $0^\circ C$ une solution aqueuse saturée d'hexamine (Blazevic et al 1979). C'est un réactif utilisé dans plusieurs réactions en chimie organique notamment la réaction de DUFF (formylation aromatique), la réaction de SOMMELET (transformation des halogénures benzyliques en aldéhydes) ou dans la réaction de DILIPRIC (synthèse d'amines à partir d'halogénures d'alkyles) (Agwara 1986).

L'HMTA a beaucoup de propriétés et applications. En effet, il est utilisé en médecine comme agent antiseptique pour le traitement des infections urinaires (Agwara *et al.* 2011). En agriculture, il est utilisé comme fertilisant. Par action bactérienne, il est converti en ammoniac puis en nitrates qui peuvent être absorbé par les plantes (Agwara 1986). C'est le principal réactif utilisé dans la préparation des explosifs RDX et HMX (March 1986). Il est également utilisé comme inhibiteur de corrosion dans l'industrie des métaux, comme conservateur dans l'industrie des peintures et est très utile dans le domaine de la cosmétique et dans l'industrie alimentaire (Kostyuchenko *et al.* 1984). Enfin, l'HMTA est un semi-conducteur important en raison de ses applications dans les diodes luminescentes, dans les affichages sur écran plat et les bio-détecteurs (Archana *et al.* 2014).

L'HMTA est un ligand qui peut se lier soit de manière monodenté au métal, soit comme ligand pontant reliant deux, trois ou quatre métaux ou bien se lier au métal contenant des espèces à travers des liaisons hydrogène (Paboudam *et al.* 2014). En d'autre terme, c'est un ligand versatile qui peut servir soit comme ligand monodenté ou bien comme ligand pontant bi-, tri- et tétradenté (Yufanyi *et al.* 2015). Il réagit avec des sels métalliques pour donner des complexes. La combinaison des liaisons de covalence et des liaisons hydrogène dans certains complexes de l'HMTA conduit à la formation des structures à 3 dimensions qui sont facilement décomposés par traitement thermique pour donner des couches minces d'oxydes métalliques (Paboudam *et al.* 2014). La formation des liaisons de covalence et hydrogène ici sont influencé par des facteurs tels la nature du solvant, l'encombrement stérique du contre ion et le pH de la solution. Paboudam *et al* en 2014 ont montré que lorsque l'eau est utilisée comme solvant de synthèse, les complexes aqua métallique obtenu se lient à l'HMTA à travers les liaisons hydrogène générant ainsi des espèces ioniques. Mais lorsque les solvants non aqueux sont utilisés, ce sont plutôt des espèces covalentes Métal-HMTA qui sont formés (Paboudam *et al.* 2014).

En somme, les applications des complexes de l'HMTA sont très étendues et les propriétés que présentent ses complexes sont très visible : activité antimicrobienne, catalyseurs et magnétisme (Kostyuchenko *et al.* 1984).

1.3.3- Activités antimicrobiennes de quelques complexes métalliques de l'hexaméthylènetétramine

L'HMTA est un agent antimicrobien très puissant. Alors, face à l'émergence des microorganismes, cette molécule a été utilisée dans la production de plusieurs complexes présentant des propriétés antimicrobiennes, un exemple connu est le complexe de Cobalt $[\text{Co}(\text{HMTA})_2(\text{NO}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ synthétisé par Agwara *et al.* (2011) qui a fait preuve de grande activité face au microorganisme *Klebsiella Pneumonia* comparé à l'antibiotique de référence *gentamycin* (Agwara *et al.* 2011). De même, Kruszynski *et al.* (2012) ont montré que les complexes obtenus par ce ligand avec les halogénures alcalins $[\text{Li}(\text{H}_2\text{O})_4]^+\text{hmta}.\text{Cl}^-$, $[\text{Li}(\text{H}_2\text{O})_4]^+\text{hmta}.\text{I}^-$, $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{hmta})]_2^{2+} \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{Br}^-$, $[\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{hmta})]_2^{2+} \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2\text{I}^-$ ont dégagé de nombreuses applications dans le domaine de la médecine spécialement dans les cellules biologiques (Kruszynski *et al.* 2012). Comparé aux antibactériens standards, le complexe Hg-HMTA synthétisé en 2012 par Mohammed *et al.* a révélé un effet inhibiteur significatif sur la croissance des espèces fongiques et bactériennes (Mohammed *et al.* 2012). Banerjee *et al.* (2003) ont également présenté que lorsque ce ligand est lié à d'autres ligands pour la synthèse d'un complexe, les propriétés fluorescentes de ce dernier augmentent (Banerjee *et al.* 2003).

En somme, les applications des complexes de coordination de l'HMTA sont très étendues et les propriétés que présentent ces matériaux sont très visibles: magnétisme moléculaire, photoluminescence, activité antimicrobienne (Yufanyi 2012).

1.4. MICROORGANISMES

Les microorganismes sont des êtres vivants invisibles à l'œil nu, unicellulaires ou pluricellulaires. Ils se retrouvent presque partout : l'air, l'eau, le sol, les plantes, le corps humain (Adel & Hanaa 1999). Plusieurs agents chimio thérapeutique ont été utilisés pour combattre ces microorganismes (antibiotiques) mais on observe de la part de certains d'entre eux une résistance aux antibiotiques rendant les traitements inefficaces (Adel & Hanaa 1999). Le tableau I regroupe quelques microorganismes, les maladies qu'ils causent et les antibiotiques utilisés pour réduire leur évolution dans l'organisme.

Tableau 1. Quelques maladies causées par les microorganismes et agents antimicrobiens.

Microorganismes	Maladies causées	Antibiotiques utilisés	Résistance	Références
<i>Escherichia coli</i>	Diarrhées, douleurs abdominales, lésions rénales chez les enfants, infection des voies urinaires.	Amoxicilline, Pénicilline, turbomycine, ciprofloxacine, Ampicilline, Gentamicine	Aucune Aucune Aucune Aucune Aucune	(Darwish <i>et al.</i> 2010, Doreen <i>et al.</i> 2002)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Infections urinaires et respiratoires	Ceftazidime, Cotrimoxazole, Ampicilline,	Faible Faible Faible	(Darwish <i>et al.</i> 2010, Doreen <i>et al.</i> 2002)
<i>Staphylococcus aureus</i>	infections de la peau: furoncles, folliculites, panaris, impétigo, abcès mammaires chez les femmes qui allaitent.	Méthicilline, Amoxicilline, benzylpénicilline.	Résistance Faible Faible	(Tioui <i>et al.</i> 2001)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	septicémies, endocardites, pyélonéphrites, méningites, ostéomyélites	Nitrofurantoïne Triméthoprime Cotrimoxazole Méthicilline		(Darwish <i>et al.</i> 2010, Doreen <i>et al.</i> 2002)
<i>Candida albicans</i>	Inflammation des organes génitaux, douleurs ou brûlements urinaires, dessèchement de la bouche	Polygodial, amphotéricin B,		(Caroline <i>et al.</i> 2005, Michael <i>et al.</i> 2010)
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Infection, méningite, cutanées.	pulmonaire, infections Amphotérine fluorocytosine, fluconazole		(Phillippe 2006)

1.5. PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS VISÉS

1.5.1 Problématique

L'apparition et l'augmentation des organismes microbiens résistants aux antibiotiques représentent aujourd'hui un réel problème de santé publique. Face à cette résistance et compte tenu de l'activité antimicrobienne intéressante des métaux et de leurs complexes, un besoin énorme se fait ressentir pour la synthèse et la caractérisation de nouveaux complexes ayant des propriétés antimicrobiennes qui aideront à lutter de façon plus efficace contre les microbes et alléger les souffrances des malades.

1.5.2 But et objectifs spécifiques

Le but de ce travail est de synthétiser et caractériser un complexe de Cu(II) avec l'hexaméthylènetétramine puis étudier son activité antimicrobienne sur quelques souches de bactéries et de levures.

De manière spécifique, il sera question de procéder de la manière suivante :

- Synthétiser le complexe de Cu(II) avec l'hexaméthylènetétramine ;
- Caractériser le complexe obtenu par des méthodes telles : la spectroscopie infrarouge, la spectroscopie ultraviolet, la conductimétrie, la détermination du point de fusion, le test de solubilité, la teneur en ion métallique et l'analyse élémentaire.
- Tester l'activité antimicrobienne de ce complexe sur quelques souches de bactéries et de levures.

CHAPÎTRE 2: PARTIE EXPÉRIMENTALE

2.1. RÉACTIFS

Les réactifs suivants ont été utilisés sans aucune purification préalable.

2.1.1. Sel métallique

- Cuivre (II) Nitrate trihydraté : $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 99%, RIEDEL-DE HAEN AG SEELZE-HANNOVER.

2.1.2. Ligand

- Hexaméthylènetétramine : HMTA, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4$, 99%, KERMEL.

2.2. SYNTHÈSE

• Synthèse du complexe de cuivre(II) avec l'hexamine

Une masse de 0,562 g d'HMTA (4 mmol) a été dissoute dans 20 mL d'un mélange eau/éthanol et la solution obtenue a été placée sous agitation magnétique. Ensuite, une masse de 0,482 g (2 mmol) de cuivre(II) nitrate trihydraté dissout dans 10 mL d'éthanol a été ajoutée goutte à goutte à la solution d'HMTA et le mélange a été laissé sous agitation magnétique pendant 2 heures. La solution verte obtenue a été filtrée et son filtrat conservé dans le but d'obtenir des monocristaux. La poudre verte obtenu lors de la filtration a été séchée à l'air libre jusqu'à poids constant.

2.3. MESURE DU POÏNT DE FUSION

Les points de fusion des composés (complexe et ligand) ont été mesurés à l'aide d'un appareil nommé STUART SCIENTIFIC du laboratoire de chimie des matériaux de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé. L'échantillon sous forme de poudre a été chargé dans un tube capillaire de taille 74 mm à une distance de 5 mm, puis introduit dans l'appareil température ambiante. La température a progressivement été augmentée et à l'aide d'une loupe, la fonte ou la dégradation de l'échantillon a été visualisée. Les résultats sont contenus dans le tableau 2 du chapitre 3.

2.4. TEST DE SOLUBILITÉ

La solubilité du complexe a été évaluée dans les solvants tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol, le diméthylsulfoxyde (DMSO), l'acétone et l'hexane. En effet, de petites quantités de complexe ont été dissoutes dans un petit volume de solvant et agité pendant 1min. la

solubilité a été évaluée par simple observation. Les résultats sont consignés dans le tableau 3 du chapitre 3.

2.5. SPECTROSCOPIE INFRAROUGE (IR)

La spectroscopie IR est basée sur les vibrations des groupements fonctionnels présents dans une molécule. Elle permet de savoir s'il y'a eu réaction de complexation entre le métal et le ligand. Les spectres IR du complexe et du ligand ont été enregistrés à l'aide d'un spectromètre nommé PerkinElmer Spectrum Two universal attenuated total reflectance Fourier transform infrared (UATR-FT-IR) dans une région allant de 4000-400 cm^{-1} . Les résultats sont contenus dans le tableau 4 du chapitre 3.

2.6. SPECTROSCOPIE UV-VISIBLE

Les spectres UV-visible des complexes ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre HACH de la marque DR 3900 dans une région allant de 300 à 900 nm, cela c'est fait au laboratoire de biotechnologie et environnement de l'Université de Yaoundé I. Elle permet d'expliquer la couleur des complexes en montrant les transitions qui y ont lieu.

2.7. MESURE DE LA CONDUCTIVITÉ

Elle a été effectuée à l'aide d'un conductimètre de marque HANNA, HI9811-5 préalablement étalonné avec de l'eau distillée. Pour cela, 0,05 g de complexe a été dissout dans 50 mL d'eau (solvant dans lequel le pourcentage de solubilité est maximal). Elle permet de mesurer la conductivité électrique afin de calculer la conductivité molaire qui renseignera sur le caractère ionique ou moléculaire du complexe. Les résultats sont contenus dans le tableau 5 du chapitre 3.

2.8. ANALYSES QUANTITATIVES

Ces analyses permettront d'avoir une idée sur la structure de nos complexes.

2.8.1 Préparation des solutions

Différentes solutions ont été préparées suivant la méthode décrite par *Jeffery et al* (Jeffery et al 1989). Ces solutions ont contribué à faire différentes analyses sur notre composé.

➤ **Solution d'amidon**

Une masse de 0,10 g d'amidon a été dissoute dans 100 mL d'eau bouillante. Le mélange a été placé sur agitation et à chaud pendant 1min. après refroidissement à température ambiante, 2 g de potassium iodure KI ont été ajoutés.

➤ **Solution de sodium thiosulfate**

Dans une fiole jaugée de 500 ml, 2,12 g de sel de sodium thiosulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) a été dissout puis complété avec de l'eau distillé jusqu'au trait de jauge tout en homogénéisant. La solution a été étalonnée à l'aide d'une solution de potassium iodate en présence de l'emploi d'amidon comme indicateur (Jeffery *et al.* 1989).



➤ **Solution de potassium iodate**

Dans une fiole distillé de 100 mL, 0,1 g de sel de KIO_3 a été dissout puis complété avec de l'eau distillé jusqu'au trait de jauge.

➤ **Solutions des complexes à analyser**

Les solutions de complexes ont été préparées en dissolvant 0,01 g de complexe dans un mélange contenant 5 mL d'eau distillée et 1 mL d'acide sulfurique concentré, ceci dans le but de rompre les liaisons métal-ligand. Le mélange obtenu a été agité à chaud jusqu'à libération de l'ion métallique (ceci s'est traduit par l'apparition de le couleur caractéristique de l'ion métallique). Après refroidissement, la solution obtenue a été versée dans une fiole de 50 mL puis complétée avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

2.8.2 Dosage des ions métalliques

Le dosage des ions métalliques s'effectue en utilisant soit une solution étalonnée d'EDTA, soit une solution de sodium thiosulfate selon l'ion métallique considéré.

Dosage des ions Cu^{2+} par iodométrie

Les ions Cu^{2+} ont été dosés par oxydoréduction mettant en évidence les couples redox I_2/I^- , Cu^{2+}/Cu et $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$. En effet, l'addition de KI en excès à une solution d'ion Cu^{2+} conduit à la formation du CuI et du I_2 . Ce dernier a ensuite été dosé par une solution d'ion thiosulfate. L'équation globale de la réaction est la suivante :



Dans 5 mL de la solution de complexe à analyser, a été ajouté 1 g de KI puis la solution a été agitée pendant quelques minutes pour faciliter la dissolution complète du sel. La solution a été ensuite dosée par le sodium thiosulfate jusqu'à l'obtention d'une couleur jaune clair. Quelques gouttes d'emploi d'amidon ont été introduites dans la solution qui a pris une couleur sombre. Le dosage s'est poursuivi jusqu'à la décoloration complète de la solution.

2.9. ANALYSE ÉLÉMENTAIRE

L'analyse élémentaire est une méthode permettant de déterminer le pourcentage des éléments C, H, N dans un composé. Elle a été effectuée à l'aide d'un appareil appelé Flash 2000 Thermo Scientific analyser. Les résultats sont consignés dans le tableau 8 du chapitre 3.

2.10. ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES

L'étude de l'activité antimicrobienne a été réalisée au Laboratoire de Phytobiochimie et d'étude des plantes Médicinales de l'Université de Yaoundé I par la méthode de diffusion sur disque en milieu solide.

2.10.1 Principe

L'antibiotique ou la substance à tester est imprégné sur un support (disque de papier) et placé sur la gélose préalablementensemencée du microorganisme. La substance à tester diffuse radialement dans la gélose en formant un gradient de concentration décroissant au fur et à mesure que l'on s'éloigne du disque. Si cette substance inhibe la croissance du germe testé, une auréole d'inhibition de croissance sera observée autour du disque après incubation. Plus le diamètre de cette zone sera élevé, plus le pathogène sera sensible.

2.10.2 Souches microbiennes utilisées

Le matériel microbiologique utilisé est constitué de quatre bactéries : *Salmonella enterica* NR13555, *Shigella flexneri* NR518, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* CIP 7625 et de quatre souches de levures : *Candida albicans* NR-29450, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Cryptococcus neoformans*

2.10.3 Méthodes

Préparation des boîtes de pétri

Le milieu Muller Hinton Agar doit être préparé en suivant les instructions du fabricant, puis stérilisé à l'autoclave à 121,1 °C pendant 15 minutes ; le milieu est par la suite laissé en surfusion dans un bain marie jusqu'à une température située entre 45 et 50 °C puis coulé dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètres, à raison de 15 mL par boîtes pour une épaisseur de 4 mm de milieu dans la boîte. Le milieu est laissé à température ambiante pour solidification et ensuite utilisé pour les tests de sensibilité aux composés.

Préparation des inocula bactériens et fongiques

A l'aide d'une anse de prélèvement clonale, prélever quelques colonies du microorganisme et suspendre dans de l'eau physiologique (0,85 % de NaCl) ou dans le milieu Muller Hinton liquide. Ajuster la turbidité de la suspension à 0,5 degré McFarland avec le standard de McFarland ; ceci correspond à 1.5×10^8 UFC/ml pour les Bactéries et 1 à 5×10^6 UFC/ml dans le cas des levures.

Préparation des solutions stock de composés

Une masse requise et préalablement déterminée des composés a été pesée puis dissoute par un solvant approprié pouvant être soit le DMSO à 10 %, soit le Méthanol à 10 % ou alors de l'eau distillée, pour une concentration requise de 25 mg/mL, dans des tubes stériles.

Préparation des disques de papier filtre

Le papier Whatman Numéro 4 a été utilisés pour la préparation des disques de 6 mm de diamètre ; ces disques ont été conditionnés dans du papier aluminium et stérilisé par autoclavage. Par la suite, chaque disque a été imbibé de 20 μ L d'une solution d'un seul composé, pour une contenance de 500 μ g de composé sur chaque disque.

Ensemencement des boîtes de pétri

Les boîtes contenant le milieu solide ont été inoculés à par écouvillonnage. Précisément, avec un écouvillon préalablement trempé dans la suspension bactérienne ou fongique, on réalise des stries serrées à la surface du milieu coulé en boîte, en rotant cette dernière de 60 degré à la fin d'un cycle de strie.

Disposition des disques de composés dans les boîtes

Les disques ont été disposés dans les boîtes 15 minutes après inoculation de celles-ci, à raison de 6 disques par boîte, soit 3 composés car testés en duplicate. A l'aide de la pince de

dépôt, nous avons pressé sur le disque pour assurer le contact étanche avec le milieu inoculé. Les boîtes ont été ensuite recouvertes, inversées puis incubées à 35 ± 2 °C, 15 minutes après la disposition des disques.

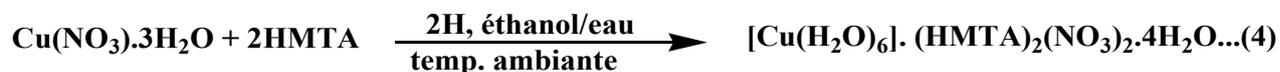
Lecture des boîtes et interprétation des résultats

A l'issue du temps requis pour l'incubation qui était de 18 heures et 24 heures respectivement pour les Bactéries et les Levures, les boîtes de pétri ont été examinées et les diamètres des zones d'inhibition complète ont été mesurés en incluant le diamètre du disque. Les mesures ont été prises le plus proche possible de la zone entière d'inhibition, avec un callipers ou une règle graduée ; les mesures ont été faites à l'endos des boîtes de pétri. Les tests ont été réalisés en duplicate, soit trois composés par boîte de pétri. Les résultats sont consignés dans le Tableau 9 du Chapitre 3.

CHAPITRE 3: RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. SYNTHÈSE DU COMPLEXE DE CUÏVRE

La synthèse a été effectuée en milieu eau/éthanol et le complexe obtenu a été caractérisé par des techniques telles que : le point de fusion, l'analyse de la solubilité, la spectroscopie IR, la conductimétrie. L'équation de la réaction de synthèse est la suivante :



Le rendement de la réaction de synthèse du complexe est calculé à partir de la relation ci-dessous :

$$R = \frac{\text{masse obtenue}}{\text{masse attendue}} \times 100 \dots (5)$$

$$R = \frac{0,47}{0,64} \times 100 = 73 \dots (6)$$

3.2. POINT DE FUSION

Les propriétés physiques du complexe et du ligand, le rendement de la réaction ainsi que leurs points de fusion sont consignés dans le tableau 2.

Tableau 2. Propriétés physiques du ligand et du complexe

Composés	Forme	couleur	Masse moléculaire (g/mol)	Point de fusion (°C)	Rendement (%)
Cu(NO ₃) ₂ ·3H ₂ O	Cristaux	Bleue foncée	223,55	144	-
HMTA	Cristaux	Blanche	140,19	298	-
[Cu(H ₂ O) ₆](HMTA) ₂ (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	Poudre	Verte	647,54	>360	73

Le rendement de la réaction de synthèse de ce complexe est de 73 %. La mesure du point de fusion a permis de vérifier la pureté du complexe. Le complexe synthétisé a un point de fusion supérieure à 360 °C (limite de l'appareil) différent de ceux du ligand et du sel de cuivre, ce qui montre bien que le composé obtenu est différent des réactifs de départ et est stable à haute température.

3.3. TEST DE SOLUBILITÉ

L'analyse de la solubilité a été effectuée dans les solvants tels que l'eau, l'éthanol, le méthanol, l'hexane, l'acétone et le diméthylsulfoxyde (DMSO). Cette analyse a pour but de déterminer dans quel solvant le complexe est soluble. Les résultats sont consignés dans le tableau 3.

Tableau 3. Solubilité du complexe

Solvants	Eau	DMSO	Methanol	Ethanol	Acetone	Hexane
	$\epsilon=78,4$	$\epsilon= 46,7$	$\epsilon = 32,7$	$\epsilon = 24,5$	$\epsilon=20,7$	$\epsilon = 2,0$
$[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{HMTA})_6(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	S	S	S	PS	I	I

S= Soluble, PS= Peu Soluble, I= Insoluble

De ce tableau, il en ressort que le complexe synthétisé est insoluble dans l'acétone et l'hexane mais soluble dans le DMSO, l'eau et le méthanol. Il est peu soluble dans l'éthanol. Ces résultats indiquent que le complexe est soluble dans les solvants à grande constante diélectrique c'est-à-dire polaires par conséquent, il est polaire.

3.4. SPECTRE INFRAROUGE (IR)

Les bandes caractéristiques du ligand HMTA et du complexe Cu-HMTA sont listés dans le tableau 4 de même que le spectre infrarouge du précurseur et du ligand superposé est représenté par la figure 3. Une étude attentive de ce spectre a permis de donner les interprétations suivantes : la bande à 3541 cm^{-1} sur le spectre de Cu-HMTA est assignée à $\nu(\text{OH})$ des molécules d'eau de coordination alors que la bande à 3411 cm^{-1} est assignée à $\nu(\text{OH})$ des molécules d'eau de cristallisation (Hee *et al.* 1989). De même le pic observé à 1675 cm^{-1} sur le spectre du complexe est assignée à la vibration de valence des molécules d'eau $\nu(\text{H}_2\text{O})$. La bande observée autour de 1236 cm^{-1} et assignée à la vibration de valence de la liaison C-N et celle observée autour de 812 cm^{-1} et assignée à la vibration du groupement CH_2 dans l'HMTA libre se sont déplacées autour de 1256 cm^{-1} et 815 cm^{-1} respectivement dans le complexe Cu-HMTA. Cette observation suggère que l'HMTA n'est pas fortement coordonné au métal central. La coordination des molécules d'eau est aussi indiquée par les bandes observées dans la région $400\text{-}600 \text{ cm}^{-1}$ assignées à $\nu(\text{Cu-O})$ (Ndifon *et al.* 2009). Au regard de tout ce qui précède, L'HMTA est plus probablement lié aux molécules d'eau et aux anions nitrates par les liaisons hydrogènes.

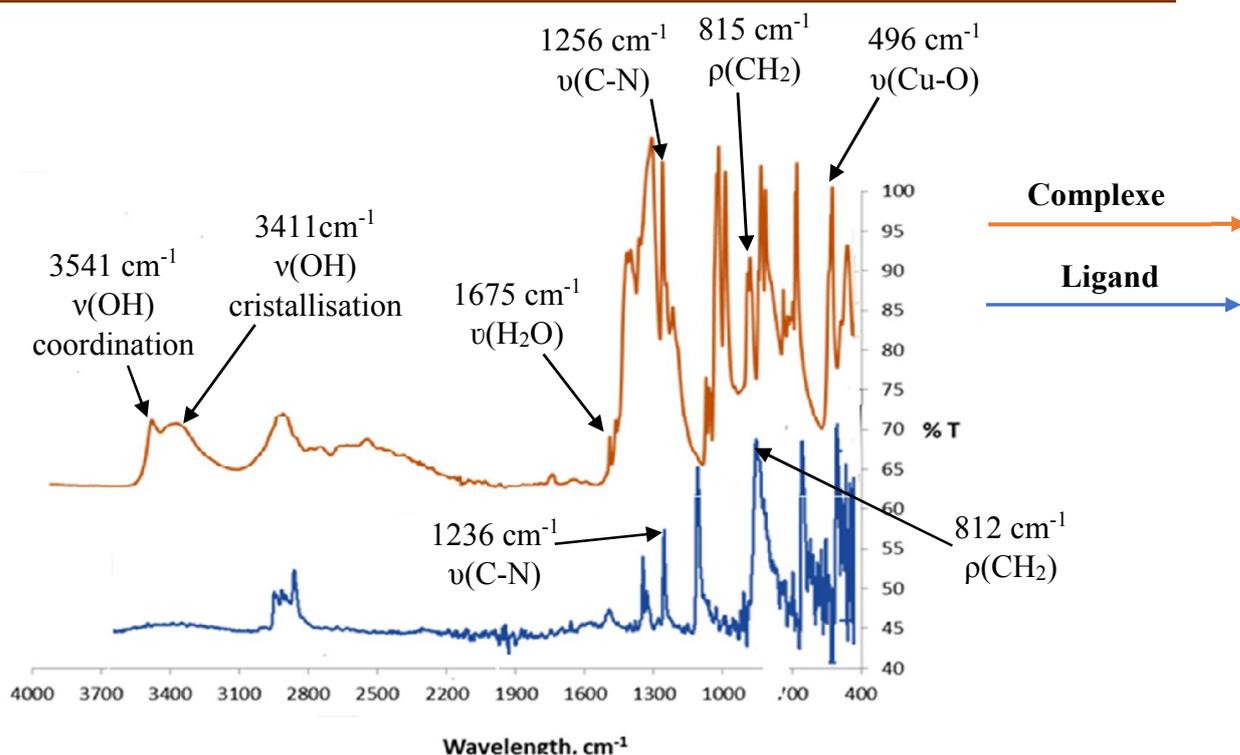


Figure 3. Spectres infrarouge du complexe et du ligand superposés.

En somme, les principales bandes d'absorption peuvent être résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4. Bandes IR caractéristiques de l' HMTA et du complexe Cu-HMTA.

	$\nu(\text{O-H})$ coordination	$\nu(\text{OH})$ cristallisation	$\nu(\text{CH}_2)$	$\nu(\text{H}_2\text{O})$	$\nu(\text{C-N})$	$\rho(\text{CH}_2)$	$\nu(\text{Cu-O})$
HMTA	/	/	2955	/	1236	812	/
Cu-HMTA	3541	3411	2942	1675	1256	815	496

3.5. SPECTRE ULTRAVIOLET-VISIBLE

Le spectre ultraviolet (UV) enregistré sur une solution du composé final est présenté à la figure 4.

Patel et al en 2012 ont synthétisé un complexe de Cu(II) présentant 3 bandes majeures d'absorption (Patel *et al.* 2012):

- une bande de faible intensité dans la région de 16900-17900 cm^{-1} correspondant à la transition ${}^2\text{E}_g \longrightarrow {}^2\text{T}_{2g}$.

- Une bande très intense dans la région de 22900-27100 cm^{-1} correspondant au transfert de charge entre le ligand et le métal.
- Une bande après 27000 cm^{-1} correspondant à la bande du ligand.

Sur la base de ses données, la géométrie octaédrique a été proposée pour le complexe (Patel *et al.* 2012).

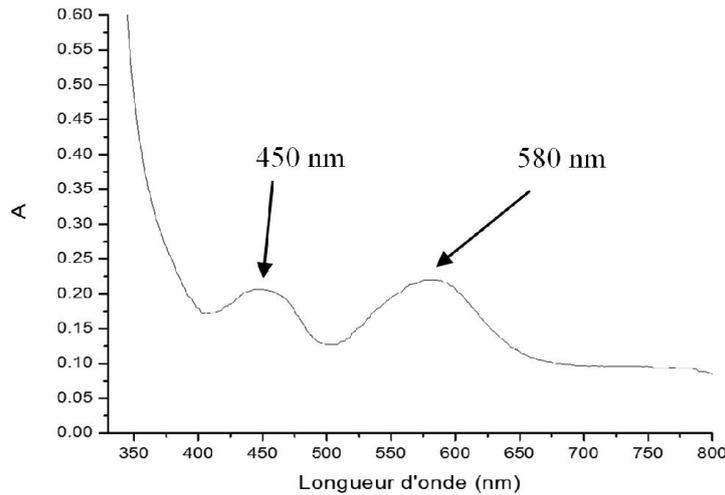


Figure 4. Spectre ultraviolet- visible du complexe de cuivre(II).

Concernant le spectre UV-Visible du complexe de Cu-HMTA, il comporte deux bandes d'absorption : la première à 450 nm ($22222,22 \text{ cm}^{-1}$) correspondant au transfert de charge entre le métal et le ligand. La deuxième bande à 580 nm ($17241,39 \text{ cm}^{-1}$) correspondant à une transition d-d plus précisément la transition ${}^2E_g \rightarrow {}^2T_{2g}$. Comparant ses résultats à ceux précédemment cités, la géométrie octaédrique est proposée pour le complexe de Cu-HMTA.

3.6. DÉTERMINATION DE LA CONDUCTIVITÉ

La conductivité du complexe a été déterminée à température ambiante dans de l'eau. Elle a été calculée en utilisant l'équation ci- dessous :

$$\Lambda_m = \frac{1000 \times K}{C} \dots \dots \dots (7)$$

Où Λ_m = Conductivité molaire, K = Conductivité électrique, C = Concentration molaire de la solution du complexe. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 5.

Tableau 5. Détermination de la conductivité molaire

Complexe	Conc×10 ⁻³ (mol.L ⁻¹)	Conductivité (μS/cm)	Conductivité molaire (S.cm ² .mol ⁻¹)	Nombre d'ions
Cu- HMTA	1,54	369,6	240	3

En comparant la valeur obtenue (240 S.cm².mol⁻¹) à celles du tableau 6 ci-dessous, il ressort qu'elle appartient à l'intervalle 235-273. Ce qui permet de conclure que le complexe synthétisé renferme trois ions. Il a par conséquent un caractère ionique en solution aqueuse.

Tableau 6. Relation entre la conductivité molaire et le nombre d'ions en solution aqueuse (Blazevic *et al.* 1979).

Conductivité molaire (S.cm ² .mol ⁻¹)	Nombre d'ions
118-131	2
235-273	3
408-435	4
≈560	5

3.7. DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN ION CUÏVRE

La teneur en ions Cu²⁺ dans le complexe a été obtenu par iodométrie. Les ions Cu²⁺ réagissent avec les iodures I⁻ et l'excès de diode produit est dosé par une solution de sodium thiosulfate (0,017 M) préalablement étalonnée par le KIO₃.

De l'équation ci-dessous :

On a à l'équivalence:

$$2[I_2] \times V(I_2) = [Cu^{2+}] \times V(Cu^{2+}) = [S_2O_3^{2-}] \times V(S_2O_3^{2-}) \dots\dots\dots(8)$$

$$\text{Il vient : } [\text{Cu}^{2+}] = \frac{[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] \times V(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})}{V(\text{Cu}^{2+})} \dots\dots\dots (9)$$

$$D'où : m(\text{Cu}^{2+}) = [\text{Cu}^{2+}] \times V_0 \times M(\text{Cu}^{2+})$$

La combinaison de (ii) et (iii) donne :

$$m_{(\text{Cu}^{2+})} = \frac{[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] \times V(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) \times V_0 \times M(\text{Cu})}{V(\text{Cu}^{2+})} \dots\dots\dots (10)$$

$[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]$ représente la concentration des ions $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$.

$V(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$ représente le volume de la solution de sodium thiosulfate versé à l'équivalence.

$V(\text{Cu}^{2+})$ est le volume de la solution du complexe pipeté pour le titrage (5,00 mL).

V_0 représente le volume de la solution mère du complexe (50 mL).

$M(\text{Cu})$ représente la masse molaire du cuivre (63,55 g/mol).

Cas du complexe de Cu-HMTA :

$$m_{(\text{Cu}^{2+})} = \frac{17,1 \cdot 10^{-3} \times 0,2 \cdot 10^{-3} \times 50 \cdot 10^{-3} \times 63,55}{10 \cdot 10^{-3}} = 1,086 \cdot 10^{-3} \dots\dots\dots (11)$$

On aura :

Il vient que pour une masse de 0,01g de complexe,

$$\% \text{Cu}^{2+} = \frac{1,806 \cdot 10^{-3}}{0,01} \times 100 = 10,86 \dots\dots\dots (12)$$

Les résultats des analyses expérimentales et théoriques sont regroupés dans le tableau 7.

Tableau 7. Pourcentages expérimental et théorique du complexe

	%Cu	
Cu-HMTA	Théorique	Expérimental
	9,81	10,86

3.8. ANALYSE ÉLÉMENTAIRE

L'analyse élémentaire du complexe correspond à la formule $\text{CuC}_{12}\text{H}_{44}\text{N}_{10}\text{O}_{16}$ qui donne lieu à la formule structurale $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{HMTA})_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Tableau 8. Analyse élémentaire du complexe de Cu

Complexe	Rendement (%)	Couleur	Analyse Élémentaire: % trouvé (% Calc.)		
			% C	% H	% N
$[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6](\text{HMTA})_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	73	Poudre	22.29	6.93	21.32
		Verte	(22.24)	(6.84)	(21.61)

3.9. MISE EN ÉVIDENCE DES IONS NITRATES

Pour mettre en évidence les ions nitrates, le procédé est le suivant : dans un bécher de 100 mL, on dissout dans 10 mL d'eau distillé, une masse de complexe de Cu-HMTA (S_1). Dans un autre bécher de 100 mL, on dissout une masse de CuSO_4 anhydre (0,01g) dans 5 mL de H_2SO_4 concentré (S_2). En versant la solution de (S_2) dans (S_1), on observe les vapeurs rousses de N_2O_4 . Ceci indique la présence des ions nitrates à l'extérieur de la sphère de coordination du complexe.

3.10. PROPOSITION DE LA STRUCTURE DU COMPLEXE SYNTHÉTISÉ

En se basant sur les différentes analyses (spectroscopie IR, UV, point de fusion, analyse élémentaire), la structure suivante est proposée :

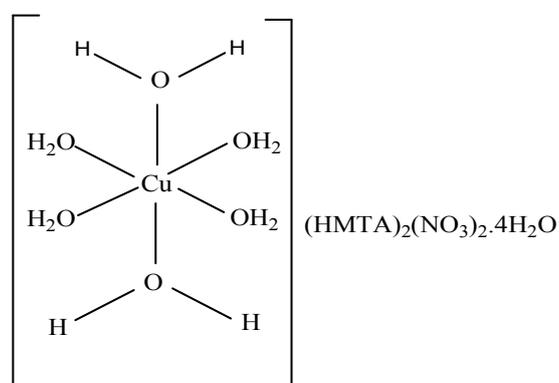


Figure 5. Structure du complexe Cuivre(II) - Hexaméthylènetétramine

3.11. ACTIVITÉS ANTIMICROBIENNES

L'activité antimicrobienne du ligand et du complexe métallique est testée sur 4 bactéries : *Salmonella enterica* NR13555, *Shigella flexneri* NR518, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* CIP 7625 et sur quatre souches de levures : *Candida albicans* NR-29450, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Cryptococcus neoformans*.

L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition observé vis à vis de chaque souche microbienne à l'aide d'un callipers ou d'une règle graduée. Les tests ont été réalisés en duplicate, soit trois composés par boîte de pétri et les résultats sont représentés dans le tableau 9 :

Tableau 9. Diamètre des zones d'inhibition des composés testés.

Composés	Diamètres des zones d'inhibition (exprimé en Moyenne ±Ecart-type) en mm							
	Bactéries				Levures			
	<i>Salmonella enterica</i> NR13555	<i>Shigella flexneri</i> NR518	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 7625	<i>Candida albicans</i> NR-29450	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Cu-HMTA	6±00	0	0	15±0,7	0	12±1,4	0	0
HMTA	0	0	9±1.4	0	0	8,5±0,7	30±0,0	0
Cu(NO ₃) ₂ .3H ₂ O	6±0,0	7±0,0	9±0,0	11,5±0,7	7±0,0	7±0,0	8±0,0	0
Chloramphenicole	20±00	19±1,4	20±0,0	22±0,0/	/	/	/	/
Fluconazole	/	/	/	/	30±0,0	32±0,0	22±0,0	20±0,0

Activité élevé=(DZI≥15±0); activité moyenne=(DZI=[12±0-15±0])

Activité faible=(DZI=[10±0-12±0]); pas d'activité =(DZI<10)

Les données du tableau précédent ont permis d'obtenir les graphiques suivants :

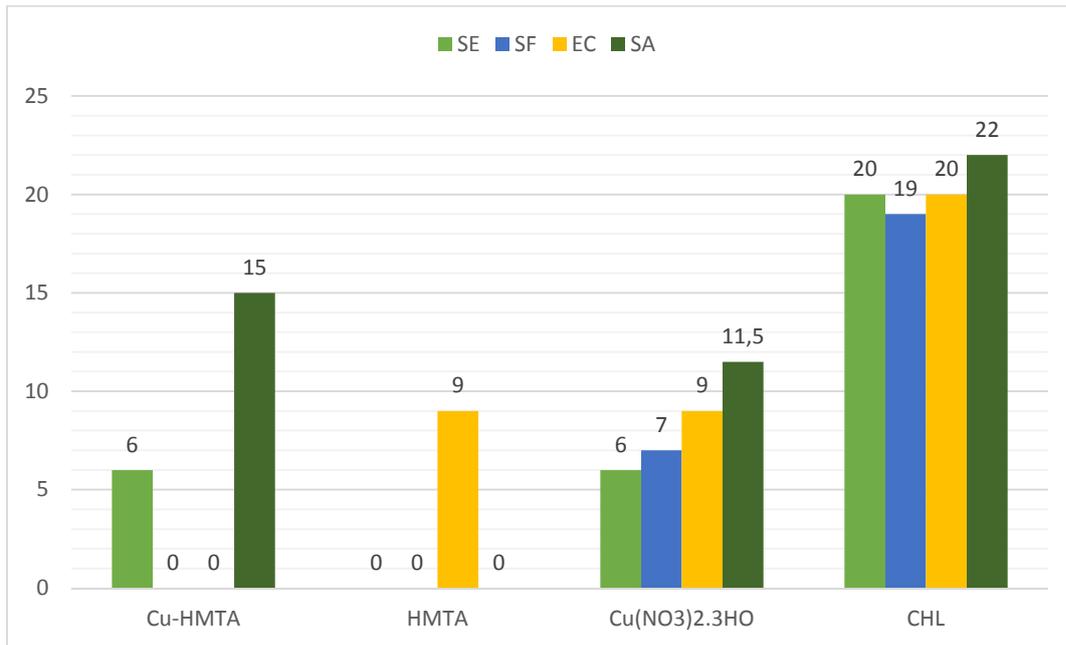


Figure 6. Graphique représentant les activités antimicrobiennes de quelques composés sur quelques Souches de bactéries.

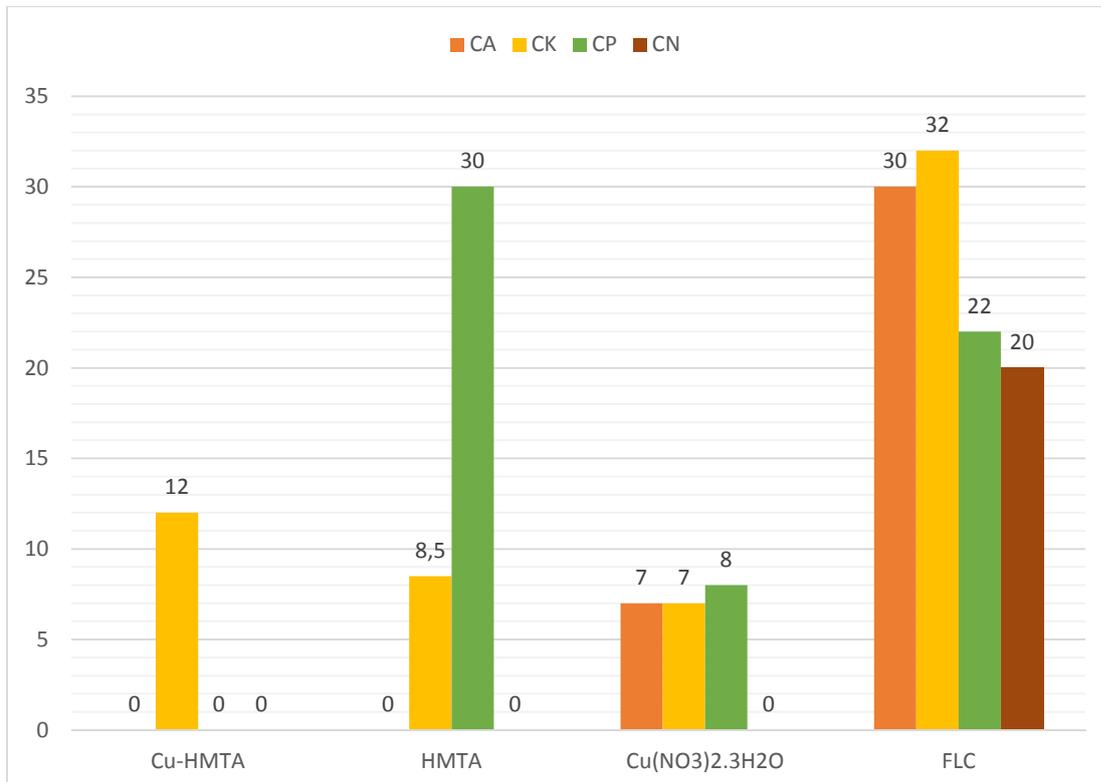


Figure 7. Graphique représentant les activités antimicrobiennes de quelques composés sur quelques souches de levures.

Un composé est actif si son diamètre de zone d'inhibition est supérieur ou égale à 10±0 mm.

Il ressort du tableau 9 que le sel métallique $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ est actif sur la souche de bactérie *Staphylococcus aureus* CIP 7625. Il possède une faible activité sur cette dernière car la valeur de son DZI est de 11,5mm. Il n'est cependant pas actif sur les autres souches de bactéries et de levures testées.

Le ligand hexaméthylènetétramine HMTA n'est pas actif sur toutes souches de bactérie testées. Cependant, il montre une activité très élevée de [30±00] sur la levure *Candidaparapsilosis* ATCC 6258. Il reste cependant inactif sur les autres souches de levure car les valeurs de DZI sont inférieures à 10 mm.

Concernant le complexe de cuivre(II) synthétisé avec l'HMTA, il montre une activité élevée de [15±0,7] sur la bactérie *Staphylococcus aureus* mais est inactif sur les autres souches de bactéries testées. Sur les différentes souches de levures testées, il est uniquement actif sur la levure *Candidakrusei* ATCC 22019. Il possède une activité moyenne de [12±1,4] sur cette dernière.

Nous pouvons déduire par rapport à ces valeurs des DZI observés dans le tableau ci-dessus que l'addition du ligand HMTA avec l'ion Cu^{2+} a formé un complexe qui a une activité antimicrobienne.

L'activité antimicrobienne du ligand et du complexe Cu-HMTA comparé à l'activité antimicrobienne d'autres composés tels que Chloramphenicole, Fluconazole vis à vis de leurs DZI est présentée dans le tableau 9 ci-dessus. Il ressort du tableau ci-dessus que le ligand HMTA possède une activité très élevée de [30±00mm] sur la levure *Candidaparapsilosis* comparé à l'antibiotique de référence Fluconazole. Le complexe synthétisé possède une activité antimicrobienne élevée sur la bactérie *Staphylococcus aureus* mais elle est inférieure à celle de l'antibiotique de référence Chloramphenicole. Le complexe montre une faible activité sur la levure *Candidakrusei*, activité qui est également inférieure à celle de l'antibiotique de référence Fluconazole.

**INTÉRÊTS
PÉDAGOGIQUES**

INTÉRÊTS PÉDAGOGIQUES

Ce travail de recherche effectué en laboratoire et qui a aboutit à la rédaction de ce mémoire nous a permis d'acquérir un certain nombre de capacités indispensables à la profession enseignante. Nous avons ainsi acquis un grand nombre de savoirs, de savoir-faire théoriques, de savoir-faire expérimental et même de savoir-être d'où l'intérêt pédagogique de ce mémoire.

La réalisation de ce mémoire nous a permis de :

- Nous familiariser avec le matériel de laboratoire (identification de la verrerie) et d'acquérir un certain nombre de techniques expérimentales entre autre la lecture du point équivalent. Cela nous permettra de mieux animer les séances de travaux pratiques au lycée.
- Nous initier à la recherche afin de mieux guider les élèves dans la compréhension des concepts.
- Maîtriser l'outil informatique avec des logiciels tels que Microsoft Word, Microsoft Excel, Paint, Chemdraw qui nous permettrons de monter des épreuves, de faire des schémas, tracer les courbes et dessiner les molécules.
- Acquérir un esprit critique et une ouverture d'esprit qui sont très importants dans l'enseignement des sciences.
- D'approfondir la connaissance de la langue anglaise car la majorité des documents utilisés étaient rédigés en anglais et cela a requis l'utilisation des dictionnaires.

**CONCLUSION GÉNÉRALE
ET PERSPECTIVES**

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Le présent travail avait pour objectif la synthèse, la caractérisation et l'étude de l'activité antimicrobienne d'un complexe de cuivre(II) avec l'hexaméthylènetétramine. Au terme de ce travail, les différents objectifs ont été atteints. Le complexe synthétisé en milieu éthanol/eau a été caractérisé par diverses techniques d'analyses quantitatives et qualitative telles le point de fusion, la conductimétrie, le test de solubilité, la spectroscopie IR, UV, l'analyse élémentaire et la teneur en ion métallique.

De couleur verte, ce complexe fond à des températures supérieures à 360 °C (limite de l'appareil) indiquant ainsi qu'il est stable à haute température. La spectroscopie IR effectuée sur ce dernier a montré qu'il y a eu complexation entre l'ion métallique et l'HMTA et la spectroscopie UV-visible a permis de justifier la couleur du complexe et de l'attribuer la géométrie octaédrique. L'analyse de la solubilité a montré que ce composé est soluble dans les solvants à grande constante diélectrique (eau, DMSO, méthanol), ce qui a permis de conclure qu'il est probablement ionique en solution aqueuse. Cette information a été confirmée par la détermination de la conductivité molaire par l'obtention d'une valeur égale à 240 S.cm².mol⁻¹. L'analyse élémentaire effectuée a permis l'obtention de la formule brute du composé. Sur la base de toutes ses analyses et avec l'aide de la littérature, le complexe de Cu(II) de formule [Cu(H₂O)₆](HMTA)₂(NO₃)₂•4H₂O a été proposée.

L'activité antimicrobienne du complexe synthétisé a été étudiée sur les souches bactériennes : *Salmonella enterica* NR13555, *Shigella flexneri* NR518, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* CIP 7625 et sur les levures : *Candida albicans* NR-29450, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Cryptococcus neoformans*. Cette étude a révélé que le complexe synthétisé possède une activité élevée sur la bactérie *Staphylococcus aureus* et une faible activité sur la levure *Candida krusei* mais ces activités sont inférieures à celle des antibiotiques de référence Chloramphenicol et Fluconazole.

Dans le futur, il est envisagé :

- D'effectuer l'analyse thermogravimétrique pour déterminer le nombre de molécules d'eau contenue dans le complexe.
- De faire la diffraction des rayons X, pour confirmer la structure proposée du complexe ;
- De faire une étude de l'activité antimicrobienne sur d'autres souches microbiennes.
- D'évaluer la toxicité du complexe.

**RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adel M., Hanaa A. (1999) Synthesis of Some Pyfudine Ribosides and their Biological Activity. *Nucleosides & Nucleotides* 18 (10): 2301-2306.
- Agwara M. (1986) Some divalent metal complexes of hexamethylenetetramine. PhD thesis, University of Ibadan, Nigeria.
- Agwara M., Yufanyi D., Foba-Tendo J., Atamba M., Tanto D. (2011) Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activities of Mn(II) , Co(II) and Ni(II) complexes of hexamethylenetetramine. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 3 (3): 196-204.
- Alma A., Tasso B., Novelli F., Sparatore F. (2009) organometallic compounds in oncology: implications of novel organotin as therapeutics agents. *Drug Discovery Today* 14 (3): 500-508.
- Archana J., Sabarinathan M., Navaneethan M., Ponnusamy S., Muthamizhchelvan C., Hayakawa Y. (2014) Chemical synthesis and functional properties of hexamethylenetetramine capped ZnSe nanorods. *Materials letter* 03: 120.
- Arnaud P. (1978) *Cours de chimie organique*. Paris, Bordas, 500.
- Banerjee S., Drew M., Ghosh A. (2003) Construction of coordination polymers of cadmium(II) with mixed hexamethylenetetramine and terephthalate or thiocyanate ligands, *Polyhedron* 22: 2933-2941.
- Blazevic N., Kolbah D., Belin B., Sunjic V., Kajfez F. (1979) hexamethylenetetramine, a Versatile Reagent in Organic Synthesis. *Synthesis-Stuttgart* 3 (3): 161-176.
- Bernard M. (1994) *Cours de Chimie minérale*. Paris, Dundo, 405.
- Bremner I. (1998) Manifestation of copper excess. *American Journal of clinical nutrition* 67 (S): 1069- 1073
- Caroline. C., Fabrice. C., olivier. L., Françoise. D. (2005) Capsule structure changes associated with *Cryptococcus neoformans* crossing of the blood brain barrier. *Medical Sciences* 21 (8): 685-687

- Curvier G., Magdeleine M. (1841) Histoire des sciences naturelles, depuis leur origine jusqu'à nos jours. Paris, Chez Fortin Masson et CIE, 476.
- Darwish M., Fares J., Zarga M., Nazer I. (2010) Antimicrobial effect Jordanian propolis and isolated flavonoids against human pathogenic bacteria. African journal of Biotechnology 9 (36): 5966-5974.
- Degasga B., Faye G., Fernandez N. (2013) Synthesis, characterization and antimicrobial activity of hexamethylenetetramine copper (II) complex. World Journal of pharmacy and pharmaceutical science 2 (6): 6391-6404.
- Doreen E., Sean F., Alan D., Nicholas P., Mark R., Michelle R., Robert M., Jo H. (2002) Isolation of antibiotics turbomycin A and B from a metagenomic library of soil microbial DNA. American Society of Microbiology 68 (9): 4301-4306.
- Hee C., Guan S., Moris N., Yang s. (2004) Structural, infrared spectral and thermogravimetry analysis of a hydrogen-bonded assembly of cobalt(II) and nickel(II) mixed complex cations with hexamethylenetetraamine and aqua ligands: $\{[M(hmt)_2(H_2O)_4][M(H_2O)_6]\}(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$. Journal of Coordination Chemistry 57 (12): 1037-1046.
- INERIS. (2014) Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Cuivre, composés et alliages, DRC-14-136881-02236A, 91.
- Iran S. (2008) Synthesis, Caractérisation of Two Novel Salent Types Symmetrical Schiff Base Ligands. Arabian Journal of Chemistry 1 (2): 217-218.
- Jeffery G., Bassett J., Mendham J. and Denney R. (1989) Vogel's textbook of Quantitative Chemical analysis. England, Longman, 416.
- Jensen J. (2002) Vibrational frequencies and structural determinations of hexamethylenetetramine. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 58(7): 1347-1364.
- Khanam. J., Begum. F., Ara. J., Jesmin. M., Ali. S. (2006) Antimicrobial Activity of Metal Cystine Complexes. Journal of Pharmaceutical Sciences 5 (2): 29-32.
- Kostyuchenko M., Kiryukhina A., Mordivinova I., Lapin S. (1984) Study of the

Condensation Products of the Alkylphenols with Hexamethylenetetramine. *Polymer science* 26 (5): 1003-1012.

Kruszynski R., Sieranski T., Bilinska A., Bernat T., Czubacka E. (2012) Alkali metal halogenides coordination compounds with hexamethylenetetramine. *Structural Chemistry* 23: 1643–1656.

Ledecq M. (2004) Les complexes Métallo-organiques au cuivre(II), une nouvelle famille d'inhibiteurs de la potéase du virus de l'immunodéficience Humaine de type 1. Thèse de doctorat de l'université de Louvain, Belgique.

Lee J. (1991) *Concise Inorganic Chemistry*. London, Chapman and Hall, 1074.

Lundsgaar K., Prochazka V., Fuchs N. (2004) Le cuivre est plus simple métal lourd, l'utilisation du cuivre comme produit phytosanitaire en viticulture biologique. *Étude bibliographique Lebendige erde* 3: 39-40.

March J. (1986) *Advanced organic chemistry*. New York, Wiley & Sons incorporation, 2925.

Mariakulandai R., Ashok F., Vasanthi M., Prabu B., Raj P. (2013) Mixed ligand complex nickel(II), copper(II) and Zinc(II) with nicotinamide and thiocyanate. *International Journal of Life Science & Pharma Research* 3 (2): 67-75.

Michael. A., Kohanski, Daniel. J., Dwyer., James. J. (2010) How antibiotic kill bacteria from targets networks. *Nature Reviews* 8: 423-435.

Mohammed F., Refat S., Nashwa M., Nashwa M. (2012) Synthesis a New Series of Methenamine Complexes with Some Different Metal Ions: Spectral, Thermal and Biological Investigations. *Life Science Journal* 9 (2): 1243-1253.

Ndifon P., Agwara M., Paboudam A., Yufanyi D, Ngoune J., Galindo A., Álvarez E., Mohamadou A. (2009) Synthesis, characterisation and crystal structure of a cobalt(II)-hexamethylenetetramine coordination polymer. *Transition Metal Chemistry* 34 (7): 745-750.

Orvig C., Abrams M. (1999) *Biological Inorganic Chemistry: Structure and Reactivity*, *Chemical Reviews* 99: 2201-2204.

Ouahes. C. (1988) *Chimie Organique*. Paris, Bordas, 307.

- Paboudam A., Gérard C., Mohamadou A., Agwara M., Conde M., Ndifon P. (2014) Solution Studies on Co(II), Ni(II), Cu(II), and Zn(II) Complexes of Hexamethylenetetramine in Aqueous and Non-Aqueous Solvents. *Phytokeys*: 397132: 1-9. doi: 10.1155/2014/397132.
- Patel S., Patel C., Dholariya R., Patel K. (2012) Synthesis of Cu (II), Ni (II), Co (II) and Mn (II) Complex with Ciprofloxacin and their Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant and Anti-tubercular Activity. *Open Journal of Metal* 2: 49-59.
- Phillippe. (2006) Glycosylceramide synthase is an essential regulator of pathogenicity of *Cryptococcus neoformans*, *Research article* 116 (6): 1481.
- Powers J. (2004) Antimicrobial Drug Development. *Clinical Microbiology and Infection* 10 (4): 23-31.
- Saeed-ur-Rehman M., Qureshi A., Masud K., Arif M., Saeed A., Ahmed R. (2007) Thermal decomposition of metal complexes of type MLX_2 (M= Co(II), Cu(II), Zn(II) and Cd(II); L= DIE; x= NO_3^-) by FG-DTA-DTG techniques in air atmosphere. *Turkish Journal of Chemistry*, 32 (2): 593 – 604.
- Scozzafava A., Owa. T., Mastrolorenzo. A., Supuran. C. (2003) Anticancer and antiviral sulfonamides. *Current Medicinal Chemistry*, 10: 925-953.
- Soatan K., Ayewole E. (2010) The Importance of Mineral Element for Human, Domestic Animals and Plants. *African Journal of food Science* 4 (5): 200-222.
- Solomons G. (2006) *Organic Chemistry*. New York, Wiley & Sons, 1280.
- Tiouit D., Naim. M., Amhis W. (2001) Traitement antibiotique des infections urinaires. *Médecine du Maghreb* 91 : 36-38.
- Vaibhavn P., Balasaheb R. (2011) Synthesis, spectral, thermal and biological studies of transition metal complexes of 4-hydroxy-3-[3-(4-hydroxyphenyl)-acryloyl]-6-methyl-2H-pyran-2-one. *Journal of the Serbian Chemical Society* 76 (9): 1237-1246.
- Wai-Yin. S., Lung. D., Lai-Ming. E., Ming. C. (2007) Some Uses of Transition Metal Complexes As Anti-cancer And Anti-HIV Agents. *Dalton Transactions* 10: 4884-4892.

Walker W. (1980) CSIRO symposium on the importance of copper in biology and medicine. CSIRO National Measurement Laboratory, Sydney.

Yufanyi D. (2012) Synthesis, Structural Characterization, Thermal Studies and Antimicrobial screening of some Metal-organic frameworks based on Hexamethylenetetramine. PhD thesis, University of Buea, Faculty of sciences, Cameroon.

Yufanyi D., Agwara M., Foba-Tendo J., Ketcha J. (2015) Effect of Decomposition Temperature on the Crystallinity of α -Fe₂O₃ (Hematite) Obtained from an Iron(III)-Hexamethylenetetramine Precursor. American Journal of Chemistry 5 (1): 1-9.