

# Анализ сверхвысоких разведений: изучение эффекта потенцирования с помощью электронной микроскопии, рамановской спектроскопии и глубокого обучения

Camelia Berghian-Grosan<sup>a</sup>, Sahin Isik<sup>b</sup>, Alin Sebastian Porav<sup>a</sup>, Ilknur Dag<sup>c,d</sup>, Kursad Osman Ay<sup>c</sup>, George Vithoulkas<sup>e</sup>

<sup>a</sup> National Institute for Research and Development of Isotopic and Molecular Technologies, Cluj-Napoca 400293, Romania

<sup>b</sup> Computer Engineering Department, Eskisehir Osmangazi University, Eskisehir 26480, Turkey

<sup>c</sup> Central Research Laboratory Application and Research Center, Eskisehir Osmangazi University, Eskisehir 26480, Turkey

<sup>d</sup> Vocational Health Services High School, Eskisehir Osmangazi University, Eskisehir 26480, Turkey

<sup>e</sup> University of the Aegean, Mytilene 81100, Greece

## ARTICLE INFO

### Ключевые слова:

Аурум металлукум  
Сверх-высокие разведения  
Потенцирование  
Кластерные сборки  
Искусственный интеллект  
Данные комбинационного рассеяния (Рамановские данные)

## АННОТАЦИЯ

Тема сверхвысоких разведений является предметом постоянных дискуссий на протяжении многих лет, главным образом по причине того, что возможности анализа таких разбавленных растворов ограничены. В связи с этим были проведены исследования просвечивающей (трансмиссионной) электронной микроскопии (ПЭМ) для оценки морфологических характеристик высоко разведенных растворов золота на основе этанола и воды; для каждого типа раствора исследовали три степени потенцирования (6С, 30С и 200С). Кроме того, алгоритмы комбинационного рассеяния (оно же - рамановская спектроскопия) и глубокого обучения (ГО) использовались для анализа трех степеней потенцирования очищенной воды, неочищенной воды и растворов золота на основе очищенной воды.

Три партии были оценены для каждой рассматриваемой категории, и способность различать все исследуемые классы между потенциями внутри каждой группы или между классами в пределах одной и той же степени потенцирования была представлена и обсуждена в корреляции с результатами ПЭМ. С помощью ПЭМ были выявлены различные формы организации для трех степеней потенцирования, тогда как модель управляемого рекуррентного блока (УРБ) показала большую точность (88 %) для распознавания всех классов, точность более 90 % для различения образцов внутри каждой группы и более 95 % точности классификации в пределах одной и той же степени потенцирования, если использовались необработанные спектры комбинационного рассеяния. Таким образом, этот набор методов (ПЭМ-ЭДРС и рамановская спектроскопия в сочетании с ГО) может быть успешно использован для характеристики и дифференциации высоко разведенных растворов, образующихся в результате потенцирования. Кроме того, учитывая результаты, полученные в результате исследования дискриминации с участием всех 11 классов и подхода наращивания данных, метод спектральной сегментации можно рассматривать как ценную стратегию для повышения точности прогнозирования модели.

## 1. Введение

Потенцирование — это процесс, включающий последовательные разведения и встряхивания (энергичная встряска); впервые он был введен немецким врачом Самуилом Ганеманом, который заметил, что растворы веществ, подвергшиеся этому процессу, оказывают биологическое действие на человека — с терапевтическими доказательствами [1]. На сегодняшний день используется множество гомеопатических средств, и они очень хорошо описаны [2–6]; они получены из самых разных веществ, которые подвергаются потенцированию для получения целебных свойств. Несколько обстоятельных теорий пытались объяснить действие гомеопатических препаратов.

Воздействие встряхивания (энергичная встряска) на некоторые фармацевтические препараты, такие как Эхинацея  $10^{-2}$ , Баптизия  $10^{-3}$ , Баптизия  $10^{-4}$ , Luffa  $10^{-4}$  и Spongia  $10^{-6}$  были недавно выделены с

помощью испарения капель и статистического анализа; образцы были изготовлены в соответствии с правилами Европейской фармакопеи для гомеопатических препаратов, и авторы использовали 0, 10 или 100 встряхиваний. Результаты показали существенные различия для всех исследованных препаратов [12]. Более того, влияние механических ударов (т. е. взбалтывания, падения) на белковые растворы хорошо известно, а меры по смягчению этих эффектов были исследованы и предложены в некоторых исследованиях [13,14]. Однако в гомеопатии встряхивание и разведение являются важным инструментом для приготовления препаратов.

Основная проблема, связанная с потенцированными растворами в высоких разведениях (30С, 200С и т. д.), превышающих число Авогадро, которое устанавливает предел разведения (12С), за которым исходное вещество не может присутствовать, заключается в том,

E-mail addresses: [camelia.grosan@itim-cj.ro](mailto:camelia.grosan@itim-cj.ro) (C. Berghian-Grosan), [george@vithoulkas.com](mailto:george@vithoulkas.com) (G. Vithoulkas).

<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.124537>

Received 22 January 2024; Received in revised form 17 March 2024; Accepted 20 March 2024

Available online 21 March 2024

0167-7322/© 2024 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

что исходный материал не может быть обнаружен даже в малом количестве [15]. Тем не менее, в исследовании, основанном на лекарствах, полученных из металлов, группа исследователей Чикрамана (Chikramane et al.) [10] продемонстрировала наличие исходных материалов в форме наночастиц в экстремальных разведениях 30С и 200С методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), дифракции электронов и атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ICP-AES). На протяжении многих лет для характеристики гомеопатически приготовленных препаратов использовались различные методы, подчеркивающие существование определенных структур даже в сильно разбавленных лекарствах [16–24]. Однако в научном сообществе хорошо известно, что эксперимент Бенвенисте [25] вскоре после обнародования его результатов был признан ложным, это признал научный комитет, направленный журналом Nature в лабораторию автора, как объяснил Джордж Витулкас в своей работе «Полемика о памяти воды» [26].

Вода является особым растворителем, играющим важную роль в биологических и химических процессах [27]. Поэтому понимание аномальных свойств жидкой воды представляет постоянный интерес, и было проведено множество экспериментальных и теоретических исследований для понимания ее структуры [28,29]. Тем не менее, структура и динамика воды до сих пор являются предметом постоянных дискуссий [30]. Чувствительность ОН-валентной моды к различным локальным средам позволяет использовать колебательную спектроскопию для изучения структуры и динамики жидкой воды [28]. Исследование жидкой воды с помощью инфракрасной и рамановской спектроскопии выявило широкие пики в ОН-валентной зоне, что указывает на множественный подлежащий вклад (от различных веществ, вызванный различными локальными расположениями водородных связей), в то время как отдельные пики можно ясно увидеть в спектрах льда [31].

В 2009 году в Sun [32] проанализировали жидкую воду в условиях окружающей среды методом рамановской спектроскопии (комбинационного рассеяния света) и предложили деконволюцию ОН-валентной зоны на пять подзон. Однако из-за сложности структуры воды и высоких разведений исследуемых растворов такой анализ представляет собой весьма трудную задачу. Чтобы решить эти трудности, к рамановским сигналам для анализа и обучения данных были применены хемометрические методы, а в последнее время и модели машинного обучения (МО) [33].

Алгоритмы МО в настоящее время набирают все большую популярность в применении к классификациям [34,35]. В последнее время традиционные методы и методы алгоритмов глубокого обучения успешно применяются для распознавания спектров комбинационного рассеяния различных сложноструктурных материалов (например, минералов) или классификации высокоразмерных спектроскопических данных [36–38].

Глубокое обучение (ГО) — это подобласть МО, которая существенно более основательная, чем методы, основанные на проектировании функций, которые использовались в прошлом. Подходы ГО имеют множество преимуществ, в том числе экономят время, не требуют создания функций и дают превосходные результаты. Искусственные нейронные сети, часто называемые ИНС, являются предшественниками методов глубокого обучения. ИНС состоят из входного слоя, одного или нескольких средних уровней (слоев) и выходного слоя. Эти подходы часто готовятся посредством обучения с учителем (контролируемое обучение), что означает, что для набора данных в процессе обучения используются заранее определенные метки. Сверточная нейронная сеть (СНС) [39], одна из наиболее представительных ГО-сетей, представляет собой тип нейронной сети с прямой обратной связью, которая использует сверточные операции и очень большое количество фильтров. Существует множество различных типов сверточных алгоритмов обучения, которые можно использовать в соответствии

с желаемой задачей. Обычно двумерные модели СНС используются для приложений, управляемых изображениями. Управляемый рекуррентный блок (УРБ) [40,41] и одномерные модели СНС используются для решения задач прогнозирования или классификации на основе временных рядов. Основная мотивация заключается в том, что рекуррентные модели обладают потенциальной способностью сохранять долгосрочные связи между данными о последовательностях. Эти подходы оказывают существенную помощь в решении проблемы исчезающего градиента [42].

В настоящей работе исследуется структурная организация потенцированных растворов золота на этанольной и водной основах, гомеопатическое средство Аурум металликум (AUR). Три высоко разбавленных (6С, 30С и 200С) раствора AUR были подвергнуты ПЭМ-анализу в двух независимых лабораториях, расположенных в Румынии и Турции. Различная организация этих растворов была подтверждена обеими лабораториями. Выбор этих сотенных разведений был мотивирован необходимостью исследования растворов, содержащих малые количества исходного вещества, даже превышающие число Авогадро (т.е. исследовались два последних разведения из указанных трех).

Рамановские спектры (спектры комбинационного рассеяния) были также получены для различных потенцированных растворов на водной основе (очищенная вода (ОВ), неочищенная вода (НВ) и раствор золота на основе ОВ (АUR)) и обработаны алгоритмами ГО для исследования способности моделей УРБ различать все эти растворы и классифицировать образцы по исследуемым категориям (АUR, ОВ и НВ) или по трем уровням потенцирования (6С, 30С и 200С). ГО использовалось для оценки его эффективности при классификации Рамановского спектра (спектров комбинационного рассеяния света). Предполагается, что спектральные значения комбинационного рассеяния света представляют собой значения временных рядов; следовательно, мы применили рекуррентную нейронную сеть. Мы провели эксперименты с моделью УРБ, поскольку она решает как проблему исчезающего градиента, так и проблему скорости. Таким образом, мы проверили возможность использования этого подхода классификации в сочетании с рамановской спектроскопией для анализа водных растворов, полученных после потенцирования. Полученные нами результаты позволили доказать, что данный набор методов (ПЭМ-ЭДРС и рамановская спектроскопия в сочетании с ГО) может быть успешно использован для характеристики и дифференциации высоко разведенных растворов, образующихся в результате потенцирования.

## 2. Материалы и методы

### 2.1. Материалы

Все исследуемые растворы были приготовлены компанией Korres (Афины, Греция), сертифицированной Национальным агентством по лекарственным средствам (ЕОФ – Греция). Эти растворы были произведены в соответствии с Немецкой гомеопатической фармакопеей (GHP), с соблюдением руководящих принципов надлежащей производственной практики (GMP) [43] и с учетом процедур Европейской фармакопеи для испытаний на соответствие, за некоторыми четко указанными исключениями. В частности, исключения касаются растворителей, используемых на заключительном этапе процесса приготовления: 50 % (объем/к объему) этанола для растворов на основе этанола и очищенная вода для растворов на водной основе. Растворы были разделены в зависимости от исходного материала на три группы: очищенная вода (ОВ), неочищенная вода (НВ) и *Aurum Metallicum* (АUR). Для каждой категории были приготовлены три степени разведения (6С, 30С и 200С), причем три партии каждой степени разведения производились в разные дни. Обозначение С связано с сотенным разведением и означает 1 часть концентрированного раствора/ранее потенцированного раствора на 99 частей элюента (масса/масса).

Для образцов ОВ и НВ целью было приготовление потенцированных растворов, аналогичных лекарственным растворам по всем параметрам, за исключением отсутствия активного лекарственного вещества. ОВ (соответствие Европейской Фармакопее – Ph. Eur.) обычно используется для приготовления гомеопатических препаратов, а НВ частично очищается. По данным компании Korres типы воды, использованные в данном исследовании, имели следующие характеристики: PW – проводимость 0.7–0.88  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , pH 6.4–6.8,  $\text{NO}_3^- < 0.2 \text{ ppm}$ , и ионы металлов, Al < 3–5 ppb, As < 0.005 ppm, Pb 0.00032 ppm, Cd < 0.001 ppm, Hg < 0.0005 ppm (всего у тяжелых металлов 0.00682 ppm, предел < 0.1 ppm); ГВ - проводимость 196  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , pH 7.8,  $\text{HCO}_3^-$  66 ppm,  $\text{Cl}^-$  22 ppm,  $\text{NO}_3^-$  9.8 ppm,  $\text{Na}^+$  15 ppm,  $\text{Ca}^{2+}$  10 ppm,  $\text{Mg}^{2+}$  8.8 ppm,  $\text{CO}_2$  9.7 ppm.

Таким образом, в качестве исходного материала использовали очищенную воду и неочищенную воду соответственно (по Ph. Eur.). Очищенную воду (по Ph. Eur.) также использовали в процессе разведения и, в связи со специфическими экспериментальными целями, использовали и в процессах приготовления растворов 30С и 200С на основе ОВ и НВ.

Для категории АUR сначала применялся метод, основанный на растирании *Aurum Metallicum* с моногидратом лактозы в качестве носителя до степени 4С; затем, чтобы получить потенцию 6С в жидкой форме, в протоколе использовалась очищенная вода (в соответствии Ph. Eur.) для приготовления потенции 5С и 30% этанол (м/м) для производства разведения 6С в жидкой форме. Начиная с 6С и до 29С и соответственно до С199, в процессе приготовления использовалась очищенная вода (по Ph. Eur.). Конечные потенцированные растворы 30С и 200С были приготовлены с использованием 50% этанола (объем/к объему) для растворов АUR на основе этанола.

В связи с конкретными экспериментальными целями очищенная вода (по Ph. Eur.) использовалась в процессах приготовления растворов АUR 30С и 200 на водной основе.

### 2.1.1. Просвечивающая электронная микроскопия

Для исследований ПЭМ использовались два типа образцов AUR; первый тип, AUR, приготовленный в 50%-ном растворе этанола, был проанализирован в Румынии и обозначен E-AUR, тогда как второй тип AUR был приготовлен только на очищенной воде (ОВ) и подвергался анализу в Турции (обозначается W-AUR). Для обоих типов AUR были исследованы три потенцированных образца: 6С, 30С и 200С.

### 2.1.2. Рамановские исследования

Для рамановских исследований использовали три типа растворов: очищенную воду (ОВ), неочищенную воду (НВ) и AUR. Дополнительно для групп ОВ и НВ рассматривались непотенцированные образцы (эталонные образцы тех типов воды, которые использовались для потенцирования) и три типа потенцированных образцов воды (6С, 30С и 200С); для каждого типа проб потенцированной воды готовили три партии в три разных дня. Для категории AUR исследовались только потенцированные растворы на водной основе. Это означает, что всего было рассмотрено 12 образцов для ОВ, 12 образцов для НВ и 9 образцов для AUR.

## 2.2. Методы

### 2.2.1. Процедуры ПЭМ и ЭДРС в Румынии

Структурно-морфологическую характеристику образцов AUR проводили на сканирующем просвечивающем электронном микроскопе (STEM) Hitachi HD-2700, оснащенном детектором вторичных электронов (SE), детектором проходящих электронов (TE) (Hitachi High Tech., Япония) и пистолетом с холодной автоэмиссией, предназначенный для получения изображений высокого разрешения (HRTEM) с разрешением 0,144 нм. Сетки ПЭМ с углеродным покрытием обрабатывали 6 мкл (микролитр) потенцированных растворов AUR, которые предварительно встряхивали 10 раз для гомогенизации. Через 1–2 мин. излишки жидкости промокали фильтровальной бумагой Whatman Grade 1 и оставляли сетки высохнуть на воздухе. Образцы анализировались с помощью системы STEM, работающей при напряжении 200 кВ. Для исследований ЭДРС использовалась двойная система ЭДРС, состоящая из кремниевого дрейфового детектора (SDD) X-Max N100TLE (Oxford Instruments).

### 2.2.2. Процедуры ПЭМ и ЭДРС в Турции

ТЕМ-изображения трех потенциалов (6С, 30С и 200С) AUR были получены с использованием ПЭМ Hitachi HT 7800, работающего при ускоряющем напряжении 100 кВ. После 10-кратного встряхивания каждого образца 1 каплю капали на сетку с углеродным покрытием и давали высохнуть в чистой среде. ЭДРС-анализ образцов проводился с использованием прибора Oxford Instruments X-MaxN, подключенного к тому же устройству ПЭМ, для подтверждения присутствия золота.

Гистограммы, подготовленные для румынских и турецких изображений ПЭМ, были реализованы на основе данных, полученных с помощью программного обеспечения ImageJ (NIH, США).

### 2.2.3. Рамановская спектроскопия

Рамановские спектры (спектры комбинационного рассеяния света) записывали на рамановском спектрометре NRS-3300 (Jasco, Япония), оснащенном детектором с зарядовой связью (CCD) с использованием лазерного (зеленого света) возбуждения с длиной волны 514,5 нм. Растворы анализировали в капиллярных трубках (Marienfeld, Германия) диаметром 1,5–1,6 мм. Объектив Olympus UMPLFL 20X, решетка 600 л/мм, оптическое сечение 0,1х6 мм, время экспозиции 120с и три сканирования использовались для регистрации спектров комбинационного рассеяния света примерно от 72 см<sup>-1</sup> до 4020 см<sup>-1</sup>.

Пик 521 см<sup>-1</sup>, соответствующий Si, использовался для калибровки спектрометра. Необработанные и зашумленные данные

не были очищены от шума и не сглажены, а выбросы не были удалены из набора данных. Предварительная обработка данных включала два основных этапа и осуществлялась с помощью Spectra Manager (JASCO) и OriginPro 2023 (OriginLab Corporation).

На первом этапе предварительной обработки данных был выбран интервал волновых чисел от 180 до 4000 см<sup>-1</sup> и ограничено количество функций до уровня менее 13 000, применив метод сплайнов 3-го порядка с шагом данных 0,3. Эти данные были дополнительно нормализованы до [0,1] и учтены для исследования ГО как необработанные рамановские данные (данные комбинационного рассеяния света).

Второй шаг включал процесс вычитания базовой линии (bg), который применялся в OriginPro к данным, полученным перед нормализацией на первом этапе. Чтобы применить процесс bg, были выполнены следующие шаги: определяемый пользователем режим базовой линии, метод 2-й производной (нули) для обнаружения опорной точки, привязка к спектру, метод линейной интерполяции и такое же количество точек базовой линии, что и во входных данных. [44]. Полученные данные были дополнительно нормализованы до [0,1] перед их использованием при построении наборов данных, предварительно bg-обработанных, для исследования ГО.

### 2.2.4. Глубокое обучение

Исследования ГО проводились с использованием языка программирования Python и Colab Pro, который обеспечивает ускоренную вычислительную среду. Модель УРБ была построена и обучена с использованием библиотеки Keras 2.12.0. Графический процессор Colab Tesla T4 использовался для обучения модели с большим размером пакета. Tesla T4 имеет в общей сложности 2560 ядер CUDA, а также 3,7 вычислительных ядра, 15 ГБ памяти и видеопамять GDDR6. Кроме того, для анализа и объяснения полученных результатов использовался пакет Sklearn 1.2.2. Более подробная информация о протоколе исследований ГО представлена в файле дополнительных материалов и на рисунках S1 и S2.

## 3. Результаты

Чтобы определить способность предложенного нами метода характеризовать различные растворы и потенциалы, мы сначала нацелились на определение свойств образцов с помощью ПЭМ-анализа.

### 3.1. Исследование ПЭМ

ПЭМ — ценный инструмент, предоставляющий фундаментальные данные об организации наноматериалов; эти знания очень важны для понимания и развития материаловедения, а также для областей, в которых используются высоко разведенные растворы, которые также состоят из наноструктур.

#### 3.1.1. Аурум металликум 6С

На рис. 1 представлены несколько ПЭМ-изображений, полученных с помощью двух разных инструментов (см. раздел «Методы») для потенци 6С AUR. Для подготовки проб использовались две разные среды: первая среда представляла собой 50%-ный раствор этанола объем/к объему, который использовался для анализов образцов AUR в Румынии (E-AUR 6С). Второй средой была очищенная вода, которую использовали для образцов, исследованных в Турции (W-AUR 6С).

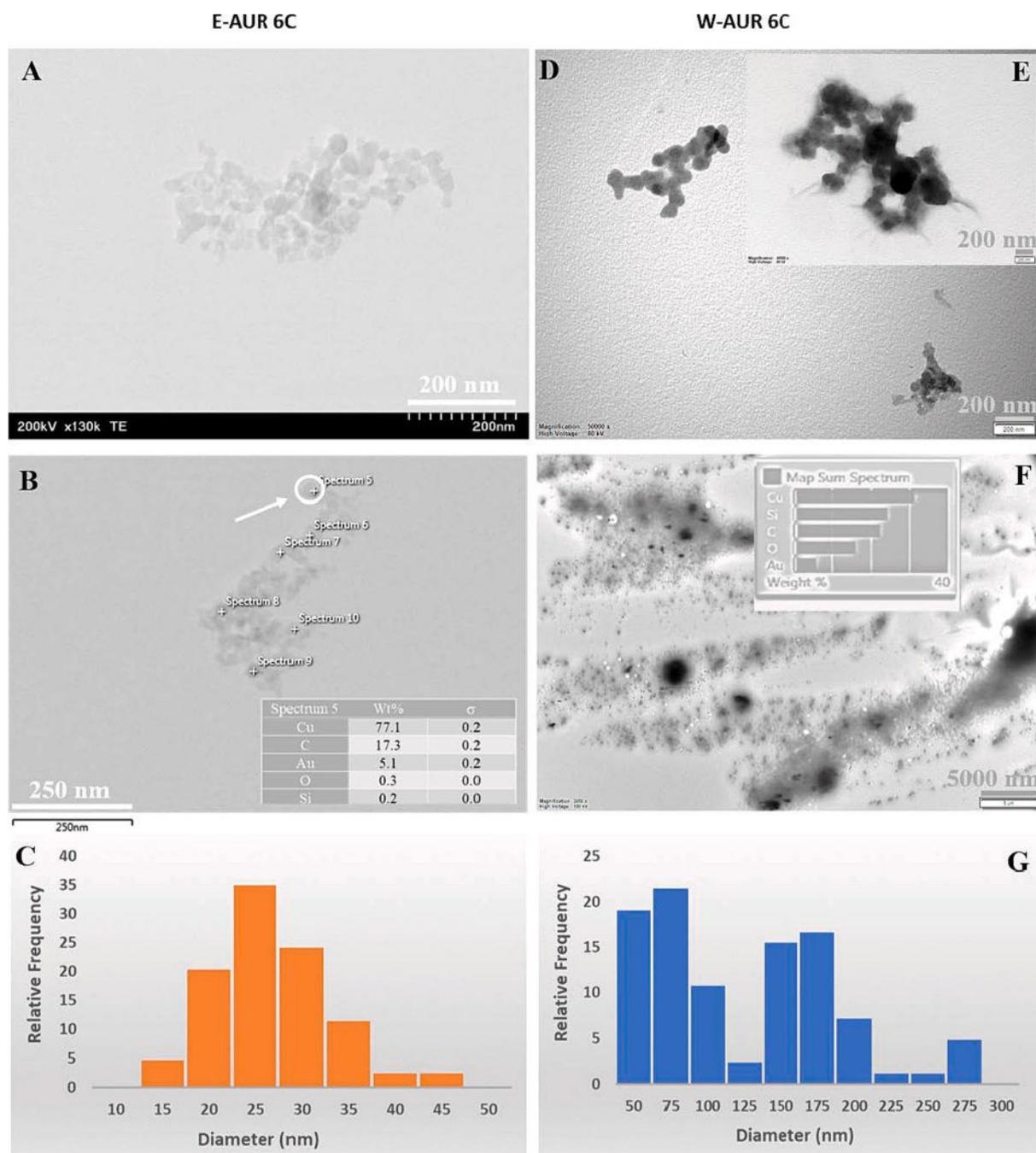
Несмотря на основные различия в растворителях, полученные ПЭМ-изображения весьма схожи по форме наночастиц. Однако размер наночастиц зависит от типа растворителя. Это проявляется на гистограммах двух образцов, что указывает на более мелкие наночастицы для E-AUR 6С, чем для W-AUR 6С (рис. 1С и G), скорее всего потому, что этанол более

эффективен в качестве стабилизирующего агента, чем вода. Данные ЭДРС (вставки к рис. 1 и рис. S3 и S4) показывают сопоставимое процентное содержание золота (Au) в обоих образцах, а также наличие кремния (Si) и кислорода (O) (медь (Cu) — из сетки).

### 3.1.2. Аурум металликум 30С

Кроме того, была исследована эффективность потенция 30С АUR; Рис. 2 и рис. S5-S8 показывают изображения ПЭМ, данные ЭДРС и результаты картирования ПЭМ-ЭДРС для этой потенции. Здесь стоит отметить сходство двух образцов E-AUR 30С и W-AUR 30С с точки зрения формы наноструктуры и внешнего вида примесей.

Как и в предыдущем случае, у потенции 6С, размер наночастиц/наноструктур потенция 30С имеет тенденцию быть меньше для E-AUR, чем для W-AUR (рис. 2С и G); такое поведение объясняется способностью этанола действовать как эффективный стабилизирующий агент. Более того, гистограммы на рис. 1 и 2 указывают на меньшие наноструктуры в E-AUR 30С, чем в E-AUR 6С, и значительное уменьшение размера более чем на 150 нм по сравнению с образцами на водной основе; эти крупные структуры отчетливо видны в W-AUR 6С, но в образце W-AUR 30С они видны только в следах. Это значительное изменение между профилями двух потенций, 6С и 30С, появляется после процесса потенцирования, который включает в себя несколько последовательных разведений и встряхиваний.



**Рис. 1.** Данные ПЭМ для потенции 6С АUR. Изображения ПЭМ (А-С) и гистограммы относительной частоты размеров наночастиц для образцов АUR на основе этанола и (D-G) для образцов на водной основе; вставка – данные ЭДРС для отмеченных точек или суммарный спектр.

### 3.1.3. Аурум металликум 200С

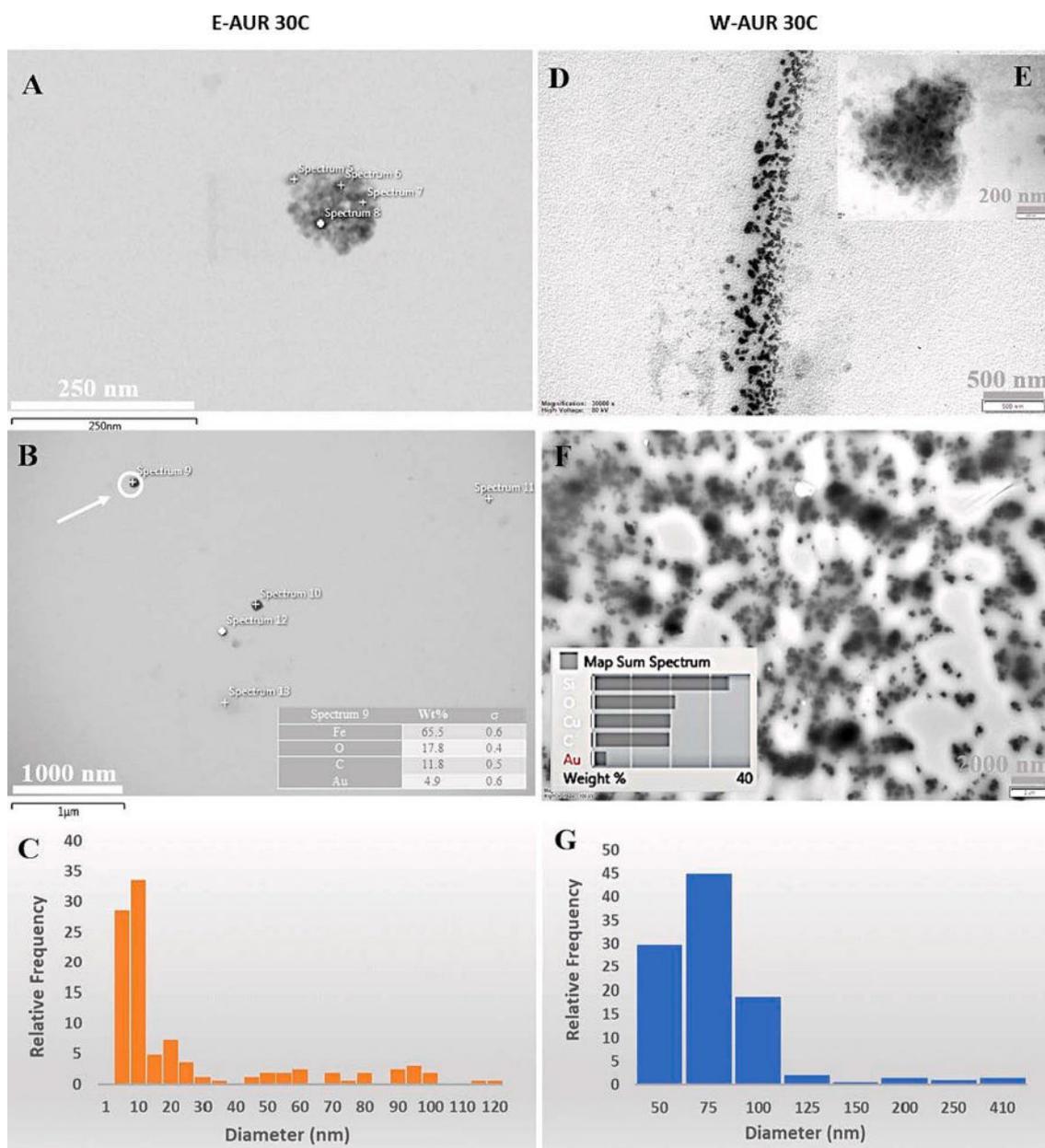
Характеристики потенции 200С показаны на рис. 3 и рис. S9-S11 и были получены путем анализа двух образцов (E-AUR 200С – приготовлено с использованием водного 50 %-ного раствора этанола (объем/к объему) и W-AUR 200С – получают только с использованием очищенной воды).

Здесь также присутствует общая тенденция, наблюдаемая для потенции 6С и 30С; а именно, размер наноструктур в образце E-AUR 200С меньше, чем в W-AUR 200С, как показано на гистограммах на рис. 3. Более того, для обоих образцов 200С наночастицы крупнее, чем наночастицы, наблюдаемые при потенции 30С, и сильно отличаются по размеру и форме от наночастиц в потенции 6С (рис. 1-3).

Четкая организация и полное отсутствие примесей внутри некоторых кластерных сборок АUR 200С видны на рис. 3В. Более

того, оба образца АUR 200С демонстрируют преимущественный

разветвленный режим сборки (рис. 3А и D), а наличие в этих кластерах небольших количеств примесей, таких как Si и Fe, демонстрируют данные ЭДРС, представленные на вставке к рис. 3 и рис. S9 и S11В.



**Рис. 2.** Данные ПЭМ для потенции 30C AUR. ПЭМ-изображения (A-C) и гистограмма относительной частоты размеров наночастиц для образцов AUR на основе этанола и (D-G) для образцов на основе воды; вставка - данные ЭДРС для отмеченных точек или суммарный спектр.

### 3.2. Исследования рамановской спектроскопии и глубокого обучения

После проведения ПЭМ-исследований можно рассмотреть возможность использования такого быстрого и неразрушающего метода анализа исследуемых растворов как рамановская спектроскопия. В связи с тем, что более крупные сборки наблюдались при ПЭМ для образцов на водной основе, и с учетом особенностей комбинационного рассеяния водно-этанольных растворов, рамановская спектроскопия применялась только к растворам на водной основе. Цель состояла в том, чтобы исследовать преобразования, которые появляются в трех группах/категориях: ОВ, НВ и АUR. ОВ обычно используется для приготовления гомеопатических средств, тогда как НВ представляет собой частично очищенную форму воды; эти виды воды обладают разными характеристиками. Здесь отметим низкую проводимость образцов ОВ (0,7–0,88 мкСм/см) и низкие уровни ионов в них ( $\text{NO}_3^- < 0,2$  ppm,  $\text{Al} < 3\text{--}5$  ppb, общее количество тяжелых металлов 0,00682 ppm); кроме того, образцы НВ имеют более высокую проводимость (196 мкСм/см), а также более высокие концентрации различных ионов (нитрата, бикарбоната, натрия и

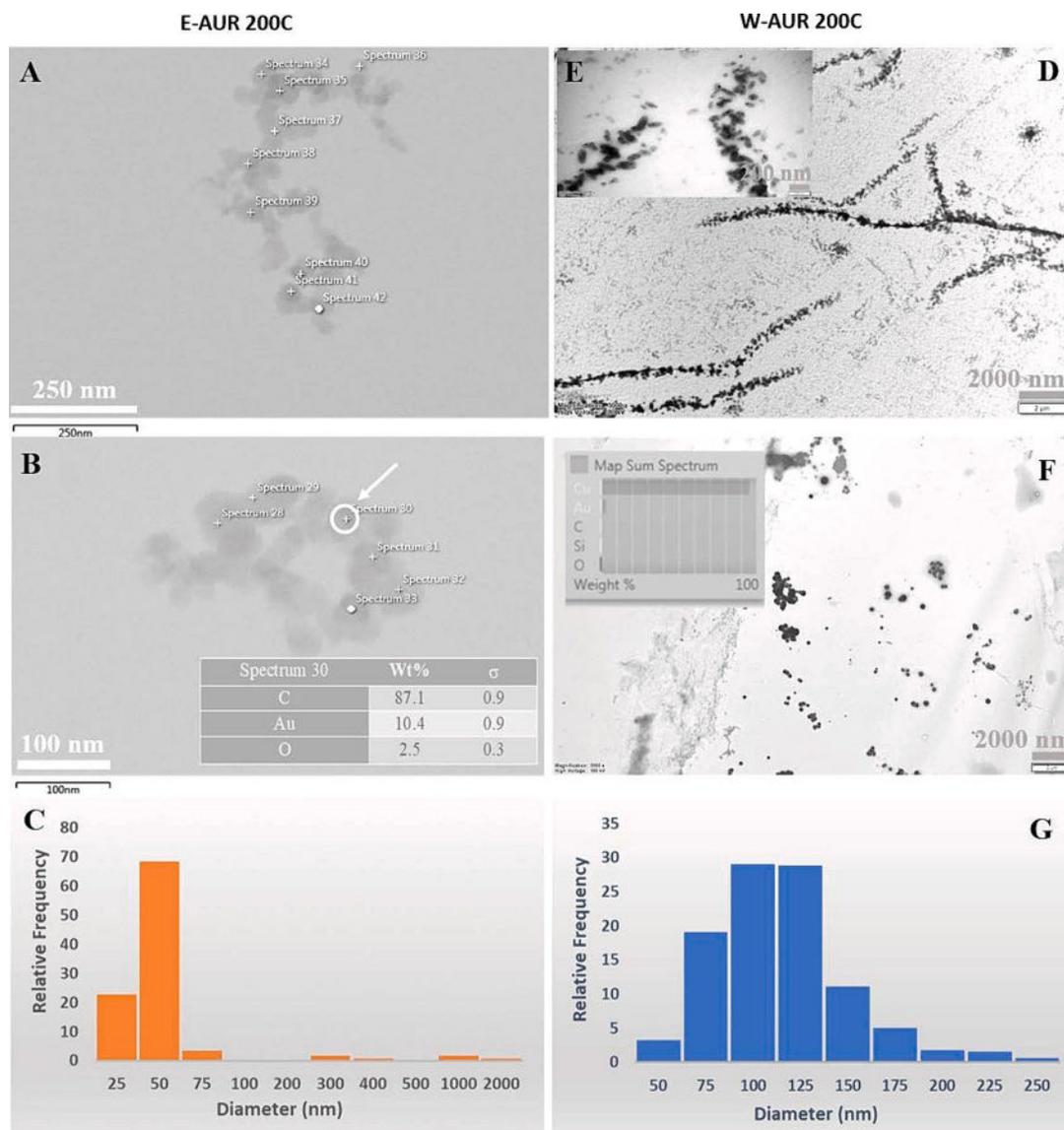
др.). Более подробную информацию смотрите в разделе «Материалы и методы».

Потенцирование проводилось с образцами ОВ, НВ и АUR, приготовленными в три разных дня, чтобы получить три партии потенцированных образцов в потенциях 6С, 30С и 200С. ОВ и НВ обычно не потенцируются для промышленного производства и коммерческого применения; процедура потенцирования была применена к ним только в данном исследовании. Таким образом, 33 образца были проанализированы методом рамановской спектроскопии. Каждый образец анализировался в 5 точках для получения репрезентативных данных по исследуемым растворам. Всего классификации было подвергнуто 165 спектров комбинационного рассеяния (диапазон 180-4000  $\text{см}^{-1}$ ). Необработанные и bg-обработанные спектры комбинационного рассеяния, полученные в ходе эксперимента, для различных степеней потенцирования (6С, 30С и 200С) исследуемых типов образцов (ОВ, НВ и АUR) представлены на рис. S12-S17.

### *3.2.1. Классификация всех классов с помощью глубокого обучения с использованием модели УРБ*

Результаты классификации рамановского спектра для 11 различных классов, полученные с использованием обученной модели УРБ, показаны на рис. 4; рассматривались как необработанные, так и предварительно bg-обработанные наборы данных.

Матрица путаницы отображается для предоставления сводной информации о количестве случаев, в которых модель УРБ точно или ошибочно предсказала результат.



**Рис. 3.** Данные ПЭМ для потенции 200С АUR. ПЭМ-изображения (А-С) и гистограмма относительной частоты размеров наночастиц для образцов на основе этанола и (D-G) для образцов на водной основе; вставка – данные ЭДРС для отмеченных точек или суммарный спектр.

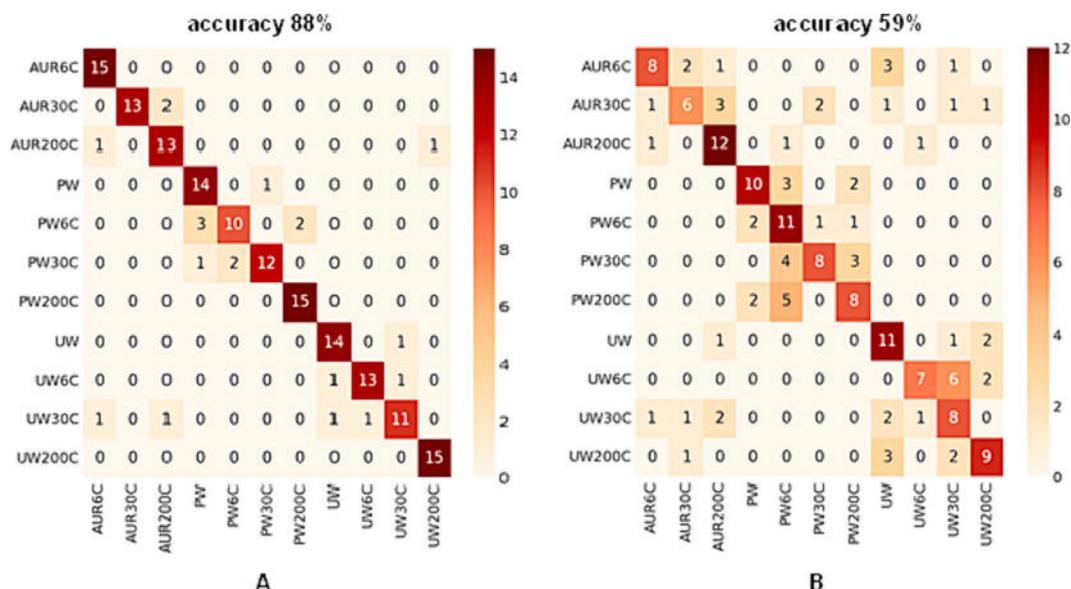
Модель демонстрирует очень хорошую способность распознавания при сравнении трех исследованных категорий; таким образом, она демонстрирует большую эффективность в различении категорий АUR, ОВ и НВ при рассмотрении необработанных данных комбинационного рассеяния света (рис. 4А). При этом можно отметить точность 88 % (табл. 1); это значение можно считать очень хорошим, особенно если принять во внимание большое сходство между исследуемыми классами. Это значение составляет чуть менее 90 % и, в основном, представляет собой результат неправильного отнесения, полученного для разных степеней потенцирования или эталонных образцов, принадлежащих к одной и той же категории; между тремя исследованными классами - АUR, ОВ, НВ зарегистрировано всего 3 неправильных отнесения (один образец АUR200С был связан с НВ200С, а два образца НВ30С были отнесены к АUR6С и АUR200С соответственно).

Таким образом, для категории АUR три других неправильных отнесения были из-за сходства между разными степенями потенцирования внутри группы. Подобное поведение наблюдалось и в группах ОВ и НВ. Ошибок, связанных с дифференциацией ОВ с образцами АUR или НВ, не было. В группах ОВ и НВ правильное распознавание наблюдалось для уровня потенции 200С, тогда как для остальных степеней

потенцирования ошибочное отнесение было в количестве образцов до 5 образцов (этот максимум был достигнут в классе РW6С).

Однако, когда модель УРБ была применена к предварительно bg-обработанному набору данных, результаты показали точность всего 59% (рис. 4В и таблица 1). В трех исследуемых группах были получены серьезные неправильные результаты классификации, но были также некоторые неправильные отнесения к образцам, не входящим в соответствующую группу. Эти результаты показывают, что плохая способность распознавания модели связана с потерей информации, которая произошла, когда к данным комбинационного рассеяния света применялось вычитание фона. Группы АUR и НВ, по-видимому, подвержены этому больше всего (рис. 4В).

В таблице 1 представлен углубленный анализ показателей эффективности предлагаемого подхода. Значения точности, полноты и  $f1$  для каждого класса определялись независимо. Результаты экспериментов показали, что макропоказатели  $f1$  для двух наборов данных составили 0,88 и 0,59. Примечательно, что категории ОВ, ОВ6С, ОВ30С и ОВ200С имеют стабильный уровень распознавания в обоих наборах данных. Когда учитываются значения полноты, модель имеет тенденцию недооценивать точность классификации образцов НВ30С. Из полученных результатов можно сделать вывод, что в целом дискриминационная способность этой модели для данных НВ несколько ограничена. Кроме того, в этой работе исследуется использование хорошо известного подхода машинного обучения, в частности метода опорных векторов (SVM), для категоризации рамановских данных.



**Fig. 4.** Матрица путаницы модели УРБ для (А) необработанных и (В) предварительно bg-обработанных данных всех исследованных категорий.

**Таблица 1**

Результаты классификации получены на основе необработанных и вычтенных из базовой линии (предварительно bg-обработанных) рамановских данных. (PW-очищенная вода, UW-неочищенная вода).

	GRU						SVM					
	unpretreated			bg-pretreated			unpretreated			bg-pretreated		
	prec	re	f1									
AUR200C	0.88	1.00	0.94	0.73	0.53	0.62	0.64	0.60	0.62	0.35	0.40	0.38
AUR30C	1.00	0.87	0.93	0.60	0.40	0.48	0.52	0.73	0.61	0.10	0.13	0.11
AUR6C	0.81	0.87	0.84	0.63	0.80	0.71	0.36	0.33	0.34	0.17	0.20	0.18
PW	0.78	0.93	0.85	0.71	0.67	0.69	0.75	0.80	0.77	0.55	0.80	0.65
PW200C	0.83	0.67	0.74	0.46	0.73	0.56	0.53	0.53	0.53	0.50	0.53	0.52
PW30C	0.92	0.80	0.86	0.73	0.53	0.62	0.65	0.73	0.69	0.50	0.40	0.44
PW6C	0.88	1.00	0.94	0.57	0.53	0.55	0.64	0.47	0.54	0.17	0.13	0.15
UW	0.88	0.93	0.90	0.55	0.73	0.63	0.69	0.73	0.71	0.18	0.13	0.15
UW200C	0.93	0.87	0.90	0.78	0.47	0.58	0.64	0.60	0.62	0.58	0.47	0.52
UW30C	0.85	0.73	0.79	0.42	0.53	0.47	0.50	0.40	0.44	0.29	0.27	0.28
UW6C	0.94	1.00	0.97	0.64	0.60	0.62	0.80	0.80	0.80	0.55	0.40	0.46
macro avg	0.88	0.88	0.88	0.62	0.59	0.59	0.61	0.61	0.61	0.36	0.35	0.35
	Accuracy: 88 %			Accuracy: 59 %			Accuracy: 61 %			Accuracy: 35 %		

По сравнению с методом глубокого обучения (УРБ), традиционный метод машинного обучения (SVM) дал самые низкие показатели точности для двух наборов данных.

Учитывая эти результаты, было проведено более углубленное исследование, а именно использован подход интеллектуального наращивания данных для увеличения размера набора данных. Таким образом, с помощью стратегии спектральной сегментации каждый спектр комбинационного рассеяния света был разделен на более мелкие сегменты. Размеры сегмента оказались равными  $1 \times 1024$ . Например, если размер выборки равен  $1 \times 12\,733$ , всего будет получено около 12 уникальных сегментов. Исходный набор данных содержит 15 экземпляров для определенного класса. По завершении процедуры сегментации размер набора данных изменится до  $1980 \times 1024$  и будет состоять из 11 отдельных классов. Таким образом, размер выборок на класс становится 180. Затем набор данных разделяется, при этом 80% выделяется для обучения, а оставшаяся часть резервируется для целей тестирования. Пятикратная перекрестная проверка была применена для измерения производительности нашей модели УРБ на полученных наборах данных сегментации.

При таком подходе было обнаружено, что существует прямая связь между увеличением размера сегмента и снижением производительности. Экспериментальные результаты,

представленные на рис. S18 и в таблице S1, полученные с использованием образцов из тестовых наборов, демонстрируют, что наша модель УРБ достигает высокого показателя точности 99,45 % для необработанных данных и идеального показателя точности 100 % для предварительно bg-обработанных данных по 11 классам.

Даже если дальнейшие исследования, а именно с привлечением большего количества образцов, необходимо проводить еще до предложения стратегии спектральной сегментации как наиболее подходящей для экспериментов, содержащих большое количество классов, эту стратегию можно рассматривать как ценный подход по приращению данных для нашего типа данных.

### 3.2.2. Классификация потенциалов внутри каждой группы с помощью глубокого обучения с использованием модели УРБ

Уровень распознавания, полученный с помощью метода ГО в каждой категории (AUR 6С, AUR 30С, AUR 200С, ОВ), (ОВ, ОВ 6С, ОВ 30С, ОВ 200С) и (НВ, НВ 6С, НВ 30С, НВ 200С) анализировали с использованием необработанных и предварительно bg-обработанных рамановских данных, и результаты сравнивали с точки зрения значений производительности. На рис. 5 показаны результаты экспериментов после применения стратифицированной 15-кратной перекрестной проверки (ПП).

Чтобы распределить образцы для проверки и обучения, мы использовали метод 15-кратного дробления, при котором 11 образцов отбираются для проверки, а остальные образцы предназначены для обучения. Для группы AUR в качестве эталонного образца использовался класс непотенцированная ОВ.

В случае AUR и ОВ полученные матрицы путаницы показывают, что были получены точности 98% и 78%, рис. 5A,D. В результате была показана точность 90 и 75 % для группы ОВ, рис. 5B,E, тогда как для группы НВ были получены значения точности 92 % и 68 %, рис. 5C,F. В целом, группы ОВ6С и НВ30С имеют низкий показатель по сравнению с другими классами.

После проведения общего анализа становится ясно, что в группе AUR меньше всего случаев неправильных классификаций и что большинство ошибочных классификаций происходит из-за большой степени сходства между классами 6С и 30С.

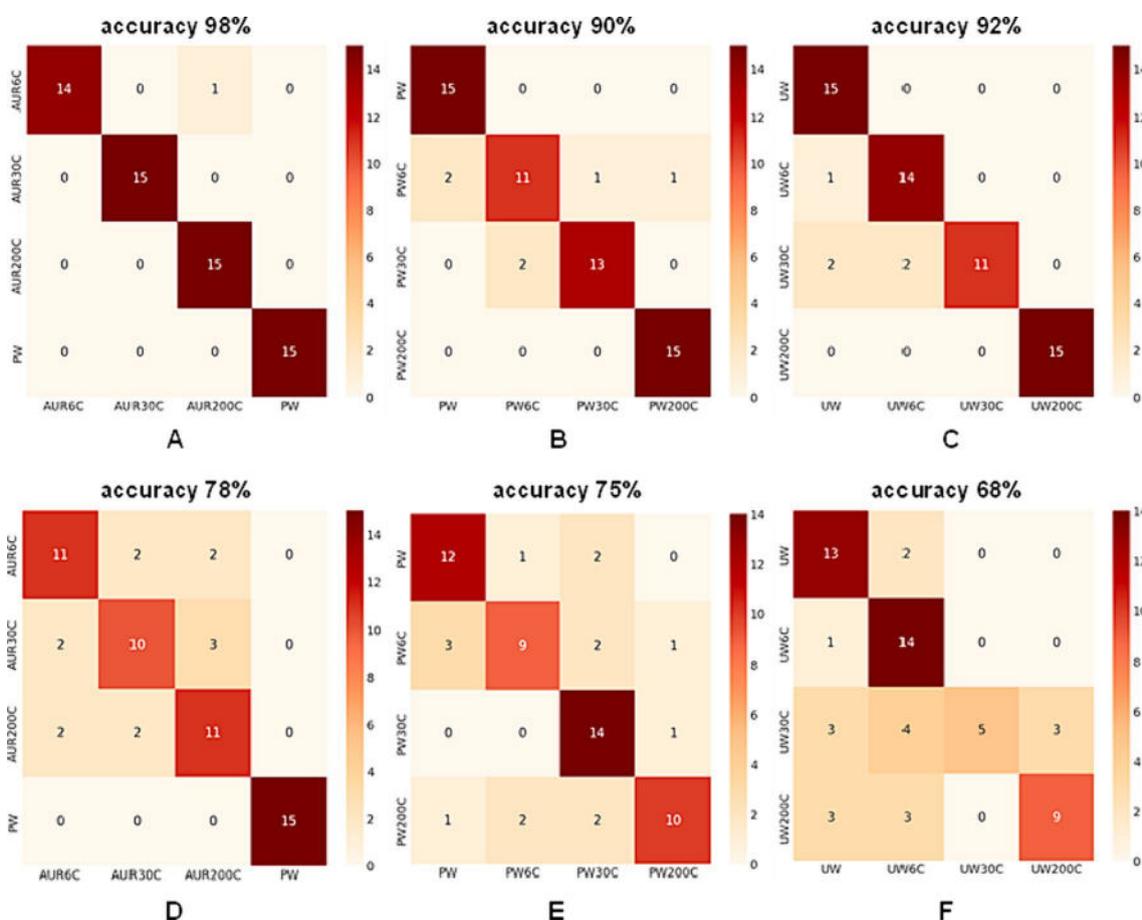


Рис. 5. Производительность модели глубокого обучения для оценки дискриминации внутри каждой группы с использованием (A-B-C) необработанных данных и (D-E-F) предварительно bg-обработанных данных.

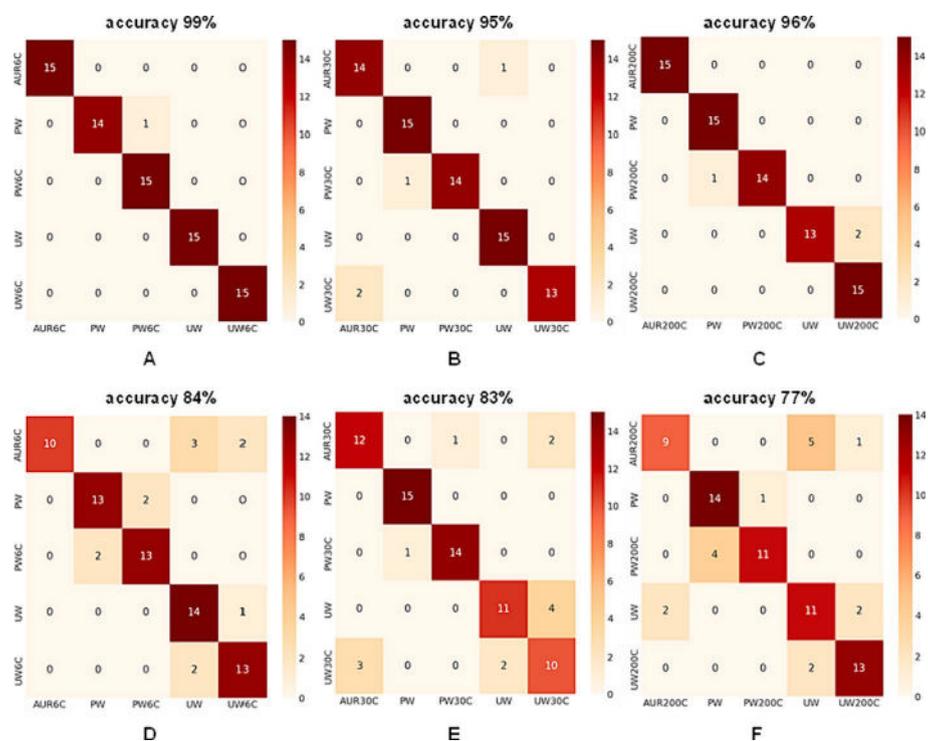


Рис. 6. Производительность модели глубокого обучения для оценки дискриминации внутри каждой степени потенцирования с использованием (A-B-C) необработанных данных и (D-E-F) предварительно bg-обработанных данных.

### 3.2.3. Классификация внутри одной степени потенцирования с помощью глубокого обучения с использованием модели УРБ

Также, была проанализирована производительность ГО в различении классов в пределах одной степени потенцирования на основе их спектров комбинационного рассеяния света (рис. 6). При классификации уровней потенцирования мы рассматривали пять классов, включая потенцированные образцы АUR, ОВ и НВ, а также непотенцированные образцы ОВ и НВ в качестве эталонных образцов. Анализ результатов показал, что для потенции 6С значения точности 99 % (без предварительной обработки) и 84 % (предварительно bg-обработанные) были получены на основе модели УРБ. Значения точности 95 % (без предварительной обработки) и 83 % (предварительно bg-обработанные) также были обнаружены для потенции 30С. Для потенции 200С модель УРБ дала значения точности 96 % (без предварительной обработки) и 77 % (предварительно bg-обработанные). Таким образом, наилучшая производительность модели УРБ наблюдалась в случае растворов низкого разведения (6С).

## 4. Обсуждение

Хорошо известно, что необходимо найти надежные методы эффективного определения отличительных признаков сверхвысоких разведений. В этом исследовании мы показываем, что можно использовать набор методов (ПЭМ-ЭДРС и рамановская спектроскопия в сочетании с ГО) для успешного определения характеристик и дифференциации высоко разведенных растворов, полученных в результате потенцирования. ПЭМ-ЭДРС можно использовать для оценки состава и морфологии любого коллоидного раствора. Здесь мы показываем, что этот метод эффективен даже для высоко разведенных растворов, позволяя нам получать ценную информацию, относящуюся к каждой степени потенцирования, и, таким образом, различать их, создавая изображения, каждое из которых может быть соотнесено с каждой потенцией.

В качестве общих результатов исследования можно отметить, что морфология раствора АUR 6С кажется похожей на морфологию обычных коллоидных растворов наночастиц золота [45]; размер наночастиц золота зависит от природы сырья, используемого в процессе синтеза. В случае двух других потенций АUR, 30С и 200С, их дизайн, по-видимому, регулируется конструкционным законом, который предсказывает стратегическое проектирование новых архитектур на основе законов физики [46].

Кремний (Si) и кислород (O) — два элемента, повсеместно присутствующие в образцах АUR 30С, в то время как изолированные наночастицы, содержащие примеси, такие как железо (Fe), титан (Ti), кальций (Ca), магний (Mg) и алюминий (Al) видны в образце E-AUR 30С, составные компоненты которого меньше (рис. 2 и рис. S5-S7). Эти примеси либо происходят из используемого растворителя, либо могут образовываться во время процесса потенцирования путем растворения из стеклянных пробирок (например, Si или Ti). Причина, по которой эти примеси настолько очевидны в потенции 30С, может быть связана с размером компонентов средства, которые меньше, чем компоненты двух других потенций (6С и 200С), как показано на гистограммах рис. 1С и G, 2С и G, а также 3С и G. Кроме того необходимо выделить нитевидный профиль, наблюдаемый в образце W-AUR 30С (рис. 2D), появление некоторых структур на основе углерода (C) в E-AUR 30С (рис. S7B) и присутствие золота в двух образцах потенции 30С (вставка на рис. 2 и рис. S5 и S8B).

Все эти результаты исследования предполагают различную организацию потенций 6С и 30С АUR и указывают на наличие как наночастиц, так и кластерных сборок в образцах 30С.

Таким образом, четкая форма примесей в виде наночастиц и нитевидные/кластерные сборки, образованные из мелких структур, позволяют предположить, что, по крайней мере для АUR 30С, наблюдаемая организация связана в

первую очередь не с системами наночастиц, а скорее с крупными сборками (кластерами) мелких структур. Вероятнее всего, эти кластеры содержат также молекулы этанола и воды (в E-AUR) или воды (в W-AUR), а примеси, изолированные, или связанные с этими крупными сборками, выглядят как наночастицы (четкая круглая форма и различные размеры).

Хотя золото было обнаружено во всех исследованных образцах, на изображениях картирования ПЭМ-ЭДРС оно выглядит разбросанным по поверхности сетки.

Результаты, полученные для образцов АUR 200С, свидетельствуют о расширенной организации молекул АUR 200С, что указывает на существование стабильных и организованных структур на большей площади. Примеси присутствуют в виде крупных сборок (рис. S10B); таким образом, в результатах картирования ПЭМ-ЭДРС можно увидеть крупные примеси (микронного масштаба), такие как Si, Al, Fe и O, связанные вместе. Нитевидный профиль можно также отметить для образцов W-AUR 200С (рис. 3A, 3D), а также появление некоторых структур на основе углерода (C) в E-AUR 200С (рис. S10A и S10C), а также наличие золота в двух типах исследованных образцов 200С (вставка в рис. 3 и рис. S9 и S11B).

Некоторые из этих результатов подтверждаются публикациями; например, присутствие золота даже в высоких потенциях (30С и 200С) АUR, выходящих за пределы числа Авогадро, было показано также в работах групп исследователей Чикрамане [10] и Раджендрана [47]. В работе группы Чикрамане элементный состав частиц ПЭМ был идентифицирован методом дифракции электронов выбранной области (SAED) и подтвержден ICP-AES-анализом [10]. Исследование Раджендрана подчеркивает идею о том, что наночастицы обнаруживаются в основном в масштабе квантовых точек во всех растворах [47]; размеры их частиц примерно аналогичны нашим данным. Эта нанокорпускулярная (в форме наночастиц) картина также подтверждается нашими выводами, но, кроме того, наши результаты показывают, что структура АUR сочетает в себе наночастицы и кластерные структуры, состоящие из меньших или более крупных наноструктур. Такие кластерные структуры более очевидны у высоких разведений, выходящих за пределы числа Авогадро, и на них влияют характер растворителя и степень потенцирования; чем выше потенция, тем более разветвленными и крупными являются образующиеся структуры. Распространение этой организации на большую область должно привести к созданию более стабильных структур, которые могли бы соответствовать конструкционному закону замысла и эволюции в природе, как описано Бежаном и Лоренте [46].

В дополнение к исследованию ПЭМ-ЭДРС мы исследовали, могут ли методология, основанная на рамановской спектроскопии, и ГО классифицировать решения, которые существенно не отличаются по структуре, например: i) растворы ОВ и НВ, которые демонстрируют тонкие различия, поскольку НВ, используемая в этих экспериментах, это, по существу, частично очищенная вода, используемая в косметике, и ii) растворы ОВ и АUR, где различия обусловлены присутствием очень низких концентраций золота в образцах АUR. Более того, сложность и динамика структур на водной основе дают реакцию в исследуемой области комбинационного рассеяния света (особенно в ОН-валентной зоне), как представлено в работе в Sun [32] и у ряда других авторов [28–31].

Результаты, полученные для всех трех исследованных ситуаций (классификация всех классов, классификация потенциалов внутри каждой группы (АUR, ОВ и НВ) или классификация в пределах одного и того же уровня потенцирования (6С, 30С и 200С), демонстрируют, что подходы ГО можно использовать для легкого и эффективного распознавания различных классов. В наборе данных с удаленной базовой линией (а именно, предварительно bg-обработанных) модель УРБ не может отразить совокупно тенденцию данных. Чтобы добиться лучших результатов для предварительно bg-обработанных данных, мы использовали квантовую нормализацию. Более того, в этом случае метод пакетной нормализации применялся только после окончательного плотного слоя модели. Модель с двумя стадиями распознавания может быть предложена в качестве расширения текущего исследования. Первая модель будет отвечать за определение типа выборки, тогда как вторая модель сможет разделить тестовые выборки на подклассы внутри класса типа выборки. Эта процедура занимает значительно больше времени, но считается, что она дает более высокие результаты. Более того, основываясь на результатах, полученных в исследовании дискриминации с участием всех 11 классов и на подходе наращивания данных, использование метода спектральной сегментации можно рассматривать как ценную стратегию повышения точности прогнозирования модели.

## 5. Выводы

В целом, анализируя результаты, полученные с помощью ПЭМ-ЭДРС и методологии, основанной на рамановской спектроскопии и алгоритмах ГО, мы можем утверждать, что эти методы могут быть

успешно использованы для характеристики сверхвысоких разведений. Этот набор методов выявил модальность, которая может быть основой для выявления различий у разных средств в соответствии с природой исходных веществ, использованных для приготовления этих средств, или может позволить дифференцировать образцы на основе их степени потенцирования. Этот подход позволяет анализировать высоко разведенные растворы в гораздо большем масштабе, чем это было возможно в прошлом.

## Заявление о вкладе авторов по системе CRediT

**Камелия Бергиан-Гросан (Camelia Berghian-Grosan):** Написание – обзор и редактирование, Написание – первоначальный вариант, супервизия, методология, исследование, курирование данных, концептуализация. **Сахин Исик (Sahin Isik):** Написание – обзор и редактирование, Написание – первоначальный вариант, программное обеспечение, методология. **Алин Себастьян Порав (Alin Sebastian Porav):** Написание – обзор и редактирование, Написание – первоначальный вариант, методология, исследование. **Илькнур Даг (Ilknur Dag):** Написание – обзор и редактирование, Написание – первоначальный вариант, супервизия, методология. **Курсад Осман Ай (Kursad Osman Ay):** Написание – обзор и редактирование, Написание – первоначальный вариант, методология, исследование. **Джордж Витулкас (George Vithoukcas):** Написание – обзор и редактирование, Написание – первоначальный вариант, методология, концептуализация.

## Декларация о конфликте интересов

Камелия Бергиан-Гросан и Джордж Витулкас заявляют о том, что оплата расходов на публикацию статьи была предоставлена Международной академией классической гомеопатии. Джордж Витулкас заявляет о связи с Международной академией классической гомеопатии, которая включает: членство в совете директоров. Если присутствуют другие авторы, они заявляют, что у них нет известных конкурирующих финансовых интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

## Доступ к данным

Данные будут предоставлены по запросу.

## Благодарности

Авторы благодарят Международную академию классической гомеопатии (IACH), Алониссос (Греция), за поддержку, оказанную этому исследованию, и доктора Дрососа Куруниса (Dr. Drosos Kourounis) за его предложения и исправления, которые значительно улучшили качество этой рукописи. Особая благодарность выражается компании Коррес Фармаци (Korres Pharmacy) и господину Джорджу Корресу (George Korres) (Греция, www.korres.com) за приготовление гомеопатических растворов.

## Приложение А. Дополнительные материалы

Дополнительные данные к этой статье можно посмотреть онлайн на сайте <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.124537>.

### Список литературы

- [1] S. Hahnemann, Organon of Medicine, 6th ed., B. Jain Publishers (P) Ltd, 2012.
- [2] T.F. Allen, *The encyclopedia of pure materia medica: a record of the positive effects of drugs upon the healthy human organism*, Boericke & Tafel, New York, 1874.
- [3] T.F. Allen, *A handbook of materia medica and homeopathic therapeutics*, F.E. Boericke, Philadelphia, 1889.
- [4] J.T. Kent, *Lectures on Homeopathic Materia Medica*, reprint, B. Jain Publications, 2005.
- [5] G. Vithoulkas, *Materia Medica Viva 1-3*, Homeopathic Book Publishers, London, 1995.
- [6] G. Vithoulkas, *Materia Medica Viva 4-13*, International Academy of Classical Homeopathy, Alonissos, 1997-2021.
- [7] P. Nandy, A review of basic research on homeopathy from a physicist's point of view, *Indian J. Res. Homeopathy* 9 (2015) 141, <https://doi.org/10.4103/0974-7168.166372>.
- [8] P. Bellavite, M. Marzotto, D. Oliosio, E. Moratti, A. Conforti, High-dilution effects revisited. 1. physicochemical aspects, *Homeopathy* 103 (2014) 4–21, <https://doi.org/10.1016/j.homp.2013.08.003>.
- [9] P.S. Chikramane, D. Kalita, A.K. Suresh, S.G. Kane, J.R. Bellare, Why extreme dilutions reach non-zero asymptotes: a nanoparticulate hypothesis based on froth flotation, *Langmuir* 28 (2012) 15864–15875, <https://doi.org/10.1021/la303477s>.
- [10] P.S. Chikramane, A.K. Suresh, J.R. Bellare, S.G. Kane, Extreme homeopathic dilutions retain starting materials: a nanoparticulate perspective, *Homeopathy* 99 (2010) 231–242, <https://doi.org/10.1016/j.homp.2010.05.006>.
- [11] G.S. Anagnostatos, G. Vithoulkas, P. Garzonis, C. Tavouxioglou, A working hypothesis for homeopathic microdiluted remedies, *Br. Homeopath. J.* 81 (1992) 67, [https://doi.org/10.1016/S0007-0785\(05\)80310-2](https://doi.org/10.1016/S0007-0785(05)80310-2).
- [12] M.O. Kokornaczyk, S. Württenberger, S. Baumgartner, Impact of succussion on pharmaceutical preparations analyzed by means of patterns from evaporated droplets, *Sci. Rep.* 10 (2020) 570, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57009-2>.
- [13] T.W. Randolph, E. Schiltz, D. Sederstrom, D. Steinmann, O. Mozziconacci, C. Schoeneich, E. Freund, M.S. Ricci, J.F. Carpenter, C.S. Lengsfeld, Do not drop: mechanical shock in vials causes cavitation, protein aggregation, and particle formation, *J. Pharm. Sci.* 104 (2015) 602–611, <https://doi.org/10.1002/jps.24259>.
- [14] A. Gerhardt, N.R. McGraw, D.K. Schwartz, J.S. Bee, J.F. Carpenter, T.W. Randolph, Protein aggregation and particle formation in prefilled glass syringes, *J. Pharm. Sci.* 103 (2014) 1601–1612, <https://doi.org/10.1002/jps.23973>.
- [15] S. Novella, R. Roy, D. Marcus, I.R. Bell, N. Davidovitch, A. Saine, A Debate, Homeopathy—Quackery or a key to the future of medicine? *J. Altern. Complement. Med.* 14 (2008) 9–15, <https://doi.org/10.1089/acm.2007.0770>.
- [16] V. Elia, M. Niccoli, New physico-chemical properties of extremely diluted aqueous solutions, *J. Therm. Anal. Calorim.* 75 (2004) 815–836, <https://doi.org/10.1023/B:JTAN.0000027178.11665.8f>.
- [17] I. Botha, A.H.A. Ross, A nuclear magnetic resonance spectroscopy comparison of 3C trituration derived and 4C trituration derived remedies, *Homeopathy* 97 (2008) 196–201, <https://doi.org/10.1016/j.homp.2008.08.008>.
- [18] M. van Wassenhoven, M. Goyens, M. Henry, E. Capieaux, P. Devos, Nuclear magnetic resonance characterization of traditional homeopathically manufactured copper (Cuprum metallicum) and plant (Gelsemium sempervirens) medicines and controls, *Homeopathy* 106 (2017) 223–239, <https://doi.org/10.1016/j.homp.2017.08.001>.
- [19] M. van Wassenhoven, M. Goyens, E. Capieaux, P. Devos, P. Dorfman, Nanoparticle characterisation of traditional homeopathically manufactured Cuprum metallicum and Gelsemium sempervirens medicines and controls, *Homeopathy* 107 (2018) 244–263, <https://doi.org/10.1055/s-0038-1666864>.
- [20] F. Esposito, U. Wolf, S. Baumgartner, NMR relaxation time investigation of highly diluted aqueous solutions of silica-lactose, *J. Mol. Liq.* 337 (2021) 115975, <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115975>.
- [21] M. van Wassenhoven, M. Goyens, M. Henry, J. Cumps, P. Devos, Verification of nuclear magnetic resonance characterization of traditional homeopathically manufactured metal (Cuprum metallicum) and plant (Gelsemium sempervirens) medicines and controls, *Homeopathy* 110 (2021) 042–051, <https://doi.org/10.1055/s-0040-1710022>.
- [22] M. van Wassenhoven, M. Goyens, P. Dorfman, P. Devos, Particle characterisation of traditional homeopathically manufactured medicine cuprum metallicum and controls, *Int J High Dilution Res* 20 (2021) 11–28, <https://doi.org/10.51910/ijhdr.v20i4.1113>.
- [23] M. van Wassenhoven, B. Nysten, M. Goyens, P. Dorfman, P. Devos, D. Magnin, The ion partition detected in homeopathically manufactured medicine cuprum metallicum and controls, *Int. J. High Dilution Res.* 21 (2022) 67–84, <https://doi.org/10.51910/ijhdr.v21icf.1181>.
- [24] H.N. Bhargaw, M. Sharma, A.K. Srivastava, N. Nambison, M.K. Gupta, M. R. Jadhav, K.S. Gavel, P.K. Baghel, M. Ahmed, Unraveling the low-frequency triggered electromagnetic signatures in potentized homeopathic medicine, *Mater. Sci. Eng. B* 292 (2023) 116365, <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2023.116365>.
- [25] E. Davenas, F. Beauvais, J. Amara, M. Oberbaum, B. Robinzon, A. Miadonna, A. Tedeschi, B. Pomeranz, P. Fortner, P. Belon, J. Sainte-Laudy, B. Poitevin, J. Benveniste, Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE, *Nature* 333 (1988) 816–818, <https://doi.org/10.1038/333816a0>.
- [26] G. Vithoulkas, The controversy over the “Memory of Water”, *Med. Sci. Hypotheses* 4 (2017) 1–6, <https://doi.org/10.12659/MSH.901167>.
- [27] B. Bagchi, *Water in biological and chemical processes: from structure and dynamics to function*, Cambridge University Press, 2013.
- [28] A. Nilsson, L.G.M. Pettersson, The structural origin of anomalous properties of liquid water, *Nat. Commun.* 6 (2015) 8998, <https://doi.org/10.1038/ncomms9998>.
- [29] L.G.M. Pettersson, R.H. Henchman, A. Nilsson, Water—the Most Anomalous Liquid, *Chem. Rev.* 116 (2016) 7459–7462, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00363>.
- [30] J. Liu, X. He, J.Z.H. Zhang, L.-W. Qi, Hydrogen-bond structure dynamics in bulk water: insights from *ab initio* simulations with coupled cluster theory, *Chem. Sci.* 9 (2018) 2065–2073, <https://doi.org/10.1039/C7SC04205A>.
- [31] F. Perakis, L. De Marco, A. Shalit, F. Tang, Z.R. Kann, T.D. Kühne, R. Torre, M. Bonn, Y. Nagata, Vibrational spectroscopy and dynamics of water, *Chem. Rev.* 116 (2016) 7590–7607, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00640>.
- [32] Q. Sun, The Raman OH stretching bands of liquid water, *Vib. Spectrosc* 51 (2009) 213–217, <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2009.05.002>.
- [33] S. Guo, J. Popp, T. Bocklitz, Chemometric analysis in Raman spectroscopy from experimental design to machine learning-based modeling, *Nat. Protoc.* 16 (2021) 5426–5459, <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00620-3>.
- [34] C.M. Bishop, *Neural networks for pattern recognition*, Clarendon Press, Oxford, 1995.
- [35] A. Gron, *Hands-on machine learning with Scikit-learn, Keras, and tensorflow: concepts, tools, and techniques to build intelligent systems*, 2nd ed., O'Reilly Media, 2019.

- [36] J.F. Díez-Pastor, S.E. Jorge-Villar, A. Arnaiz-González, C.I. García-Osorio, Y. Díaz-Acha, M. Campeny, J. Bosch, J.C. Melgarejo, Machine learning algorithms applied to Raman spectra for the identification of variscite originating from the mining complex of Gava, J. Raman Spectrosc. 51 (2020) 1563–1574, <https://doi.org/10.1002/jrs.5509>.
- [37] J. Houston, F.G. Glavin, M.G. Madden, Robust classification of high-dimensional spectroscopy data using deep learning and data synthesis, J. Chem. Inf. Model. 60 (2020) 1936–1954, <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b01037>.
- [38] F. Lussier, V. Thibault, B. Charron, G.Q. Wallace, J.-F. Masson, Deep learning and artificial intelligence methods for Raman and surface-enhanced Raman scattering, TrAC Trends Anal. Chem. 124 (2020) 115796, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115796>.
- [39] Y. Lecun, L. Bottou, Y. Bengio, P. Haffner, Gradient-based learning applied to document recognition, Proc. IEEE 86 (1998) 2278–2324, <https://doi.org/10.1109/5.726791>.
- [40] K. Cho, B. Van Merriënboer, C. Gulcehre, D. Bahdanau, F. Bougares, H. Schwenk, Y. Bengio, Learning Phrase Representations using RNN Encoder–Decoder for Statistical Machine Translation, in: Proceedings of the 2014 Conference on Empirical Methods in Natural Language Processing (EMNLP), Association for Computational Linguistics, Doha, Qatar, 2014: pp. 1724–1734. <https://doi.org/10.3115/v1/D14-1179>.
- [41] M.H. Wathsala N. Jinadasa, A. C. Kahawalage, M. Halstensen, N.-O. Skeie, K.-J. Jens, Deep Learning Approach for Raman Spectroscopy, in: C. Shakher Pathak, S. Kumar (Eds.), Recent Developments in Atomic Force Microscopy and Raman Spectroscopy for Materials Characterization, IntechOpen, 2022. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99770>.
- [42] R. Pascanu, T. Mikolov, Y. Bengio, On the difficulty of training Recurrent Neural Networks, 2013. <https://doi.org/10.48550/ARXIV.1211.5063>.
- [43] KORRES Homeopathic Production Unit, An Introduction to Homeopathic Pharmacopoeia and Production Guidelines, (n.d.). <https://youtube/NkNe-33Q008> (accessed April 23, 2023).
- [44] OriginPro, OriginLab Corporation. Create and Subtract Baseline with Peak Analyzer <https://www.originlab.com/doc/Tutorials/Create-Subtract-Baseline> (accessed March 12, 2024).
- [45] F. Chen, Y. Wang, J. Ma, G. Yang, A biocompatible synthesis of gold nanoparticles by tris(hydroxymethyl)aminomethane, Nanoscale Res. Lett. 9 (2014) 220, <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-220>.
- [46] A. Bejan, S. Lorente, The constructal law of design and evolution in nature, Phil. Trans. R. Soc. B 365 (2010) 1335–1347, <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0302>.
- [47] E.S. Rajendran, Homeopathy a material science: nanoparticle characterization of Aurum metallicum 6C, 30C, 200C, 1000C, 10000C, 50000C and 100000C, Int. J. Curr. Res. 9 (2017) 48923–48927.