

Dziennik cieczy molekularnych

strona dziennika: www.elsevier.com/locate/molliq

Camelia Berghian- Grosan (a), Sahin Isik (b), Alon Sebastian Porav (a), Ilknur Dag (c,d), Kursad Osman Ay ©, George Vithoukas (e)

a- Narodowy Instytut Badań i rozwoju technologii izotopowych i molekularnych, Cluj-Napoca 400293, Rumunia

b- Wydział Inżynierii Komputerowej, Uniwersytet Eskisehir Osmangazi, Eskisehir 26480, Turcja

c- Centralne Laboratorium Badawcze zastosowanie i Centrum Badawcze, Uniwersytet Eskisehir Osmangazi, Eskisehir 26480, Turcja

d- Szkoła średnia zawodowych usług zdrowotnych, Uniwersytet Eskisehir Osmangazi, Eskisehir 26480, Turcja

e- Uniwersytet w Aegean, Mytilene 81100, Grecja

Analiza ultra-wysokich rozcieńczeń: badanie skutków potencji za pomocą mikroskopii elektronowej, spektroskopii Ramana i głębokiego uczenia się

Najważniejsze informacje

- Podczas badań zastosowano protokół oceny ultra-wysokich rozcieńczeń (UHD).
- Badania morfologiczne 6C, 30C i 200C naszych roztworów zostały zrealizowane za pomocą pomiarów tem-EDX.
- W badaniu różnicowania roztworów UHD zastosowano kolejno: wodę oczyszczoną, wodę nieoczyszczoną i Aurum metallicum.

Streszczenie

Temat ultrawysokich rozcieńczeń przez lata był przedmiotem ciągłej debaty, głównie dlatego, że możliwości analizy takich rozcieńczonych roztworów są ograniczone. W tym kontekście przeprowadzono badania transmisyjnej mikroskopii elektronowej (tem), w celu oceny cech morfologicznych wysoko rozcieńczonych roztworów złota na bazie etanolu i wody; zbadano trzy poziomy potencjalizacji (6, 30C i 200C)- dla każdego rodzaju roztworu. Ponadto do analizy trzech poziomów potencji wody oczyszczonej, wody nieoczyszczonej i roztworów złota na bazie wody oczyszczonej zastosowano algorytmy spektroskopii Ramana i algorytm głębokiego uczenia (DL). Oceniono trzy partie dla każdej rozważanej kategorii, a zdolność do rozróżnienia między wszystkimi badanymi klasami, między potencjami w każdej grupie lub między klasami na tym samym poziomie potencji, zostały przedstawione i omówione w korelacji z ustaleniami TEM.

Odrębne formy organizacji zostały ujawnione przez TEM dla trzech poziomów potencjalizacji, podczas gdy model bramkowanej jednostki powtarzalnej (GRU) wykazał dużą dokładność (88 %) podczas różnicowania wszystkich klas, ponad 90% dokładności do różnicowania próbek w każdej grupie i ponad 95% dokładności do klasyfikacji w ramach tego samego poziomu potencjalizacji, przy zastosowaniu bezpretensjonalnego widma Ramana. Tak więc ten zestaw metod (tem-EDX i spektroskopia Ramana w połączeniu z DL) może być z powodzeniem stosowany do charakteryzowania i różnicowania silnie rozcieńczonych roztworów, powstałych po obróbce potentyzacyjnej. Ponadto, biorąc pod uwagę wyniki uzyskane z badania różnicującego, obejmującego wszystkie 11 klas i podejście do zbierania danych, metoda segmentacji spektralnej może być postrzegana jako cenna strategia zwiększania dokładności przewidywania modelu.

Słowa kluczowe

Aurum metallicum

Bardzo wysokie rozcieńczenia

Wzmocnienie

Zespoły klastrowe

Sztuczna inteligencja (DL- algorytm głębokiego uczenia się)

Dane Ramana

1. Wprowadzenie

Potencjonowanie to proces, polegający na wielokrotnym rozcieńczeniu leku i energicznym jego wstrząsaniu. Został on po raz pierwszy wprowadzony przez niemieckiego lekarza Samuela Hahnemanna, który zaobserwował, że roztwory substancji, które zostały poddane temu procesowi, mają działanie biologiczne u ludzi - z potwierdzonymi dowodami terapeutycznymi [1]. Do tej pory stosowano wiele środków homeopatycznych i są one bardzo dobrze udokumentowane [2], [3], [4], [5], [6]; pochodzą z szerokiej gamy substancji, które poddawane są potencjonowaniu w celu wyłonienia z nich właściwości leczniczych. Kilka wnikliwych perspektyw próbowało wyjaśnić działanie środków homeopatycznych [7], [8], [9], [10], [11]. Wpływ dynamizacji (energicznego wstrząsania) na niektóre preparaty farmaceutyczne, takie jak Echinacea 10-2, Baptisia 10-3, Baptisia 10-4, Luffa 10-4 i Spongia 10-6, został niedawno podkreślony za pomocą parowania kropelek i analizy statystycznej; próbki zostały wyprodukowane zgodnie z zasadami Farmakopei Europejskiej dla leków homeopatycznych, a autorzy zastosowali 0, 10 lub 100 procesów dynamizacji. Wyniki wykazały istotne różnice dla wszystkich badanych preparatów [12]. Ponadto wpływ wstrząsów mechanicznych (tj. pobudzenia, upuszczania) na roztwory białek jest dobrze znany, a środki łagodzące te skutki zostały zbadane i zaproponowane w niektórych badaniach [13], [14]. Jednak w przypadku homeopatii wstrząsanie wraz z rozcieńczeniem jest niezbędnym narzędziem do odpowiedniego przygotowania leku.

Poważny problem, dotyczący potentyzowanych roztworów przy wysokich rozcieńczeniach (30C, 200C itp.) poza liczbą Avogadro, która określa granicę rozcieńczenia (12C), powyżej której pierwotna substancja nie może być obecna, jest taki, iż nie oczekuje się, że materiał wyjściowy zostanie znaleziony nawet w najmniejszej ilości [15]. Niemniej jednak w badaniu opartym na lekach uzyskanych z metali (Chikramane i wsp.) [10], wykazano obecność materiałów wyjściowych w postaci nanocząstek w ekstremalnych rozcieńczeniach

30C i 200C- za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM), dyfrakcji elektronów i indukcyjnie sprzężonej spektroskopii emisji plazmy atomowej (ICP–AES). Przez lata stosowano różne techniki do charakteryzowania homeopatycznie przygotowanych środków, podkreślając istnienie określonych struktur nawet w silnie rozcieńczonych lekach [16], [17], [18], [19], [20], [21], [22], [23], [24]. Jednak w środowisku naukowym wiadomym jest, że eksperyment Benveniste [25], wkrótce po opublikowaniu jego ustaleń, został opisany jako nieudany przez Komitet Naukowy (czasopismo Nature), jak to wyjaśnił George Vithoulkas w swoim artykule "Kontrowersje wokół pamięci wody" [26].

Woda jest specjalnym rozpuszczalnikiem, który odgrywa ważną rolę w procesach biologicznych i chemicznych [27]. Dlatego zrozumienie anomalnych właściwości wody w stanie ciekłym było przedmiotem ciągłego zainteresowania i przeprowadzono wiele badań eksperymentalnych i teoretycznych w celu zrozumienia jej struktury [28], [29]. Niemniej jednak struktura i dynamika wody są nadal przedmiotem ciągłej debaty [30]. Czułość trybu rozciągania OH na różne środowiska lokalne pozwala na zastosowanie spektroskopii wibracyjnej w badaniu struktury i dynamiki wody w stanie ciekłym [28]. Badanie ciekłej wody za pomocą spektroskopii w podczerwieni i Ramana ujawnia szerokie piki w regionie rozciągania OH, co sugeruje wiele podstawowych wkładów (od różnych gatunków, indukowanych przez różne lokalne układy wiązania wodorowego), podczas gdy wyraźne piki są widoczne w widmach lodu [31]. W 2009 roku Sun [32] przeanalizował ciekłą wodę w warunkach otoczenia za pomocą spektroskopii Ramana i zaproponował dekonwolucję obszaru rozciągania OH na pięć podpasm. Jednak ze względu na złożoność wody i wysokie rozcieńczenia badanych roztworów taka analiza jest bardzo trudnym zadaniem. Aby rozwiązać te trudności, techniki chemometryczne, a ostatnio modele uczenia maszynowego (ML) zostały zastosowane do sygnałów Ramana- do analizy i uczenia się danych [33].

Algorytmy ML zyskują obecnie coraz większą popularność w zastosowaniach klasyfikacyjnych [34], [35]. Ostatnio z powodzeniem zastosowano tradycyjne i głębokie algorytmy metody głębokiego uczenia się do rozróżniania widm Ramana oraz różnych złożonych materiałów (tj. minerałów) lub klasyfikowania wysoko wymiarowych danych spektroskopowych [36], [37], [38].

Algorytm głębokiej nauki (DL- metoda, naśladująca sposób ludzkiego myślenia poprzez łączenie wielu warstw algorytmów w celu przetwarzania danych) to podzbiór ML, który jest znacznie bardziej niezawodny niż metody oparte na inżynierii funkcjonalnej, które były używane w przeszłości. Podejścia DL mają wiele zalet, w tym są efektywne czasowo, nie wymagają konstrukcji funkcji i pozwalają na osiągnięcie lepszych wyników. Sztuczne sieci neuronowe, często znane jako ANNs, są prekursorami technik DL. ANN składają się z warstwy wejściowej, jednego lub więcej poziomów środkowych (warstw) i warstwy wyjściowej. Podejścia te są często stosowane w procesie nadzorowanego uczenia się, co oznacza, że predefiniowane etykiety są używane dla zestawu danych w procesie szkolenia. Splotowa sieć neuronowa (CNN) [39], jedna z najbardziej reprezentatywnych sieci DL, to rodzaj sieci neuronowej sprzężenia zwrotnego, która wykorzystuje operacje splotowe i bardzo dużą liczbę filtrów. Istnieje wiele różnych typów algorytmów uczenia się, opartych na splotach, które można wykorzystać zgodnie z pożądanym zadaniem. Zazwyczaj modele 2-D CNN są wykorzystywane do aplikacji, opartych na obrazie.

Bramkowana jednostka powtarzalna (GRU) [40], [41] i 1-D modele CNN są wykorzystywane do obsługi zadań przewidywania lub klasyfikacji, opartych na szeregach czasowych. Kluczową motywacją jest to, że powtarzające się modele mają potencjalną zdolność do zachowania długoterminowych relacji między danymi sekwencji. Podejścia te zapewniają znaczną pomoc w rozwiązaniu znikającego problemu gradientu [42].

Niniejsza praca bada strukturalną organizację potentyzowanych roztworów złota na bazie etanolu i wody, środka homeopatycznego o nazwie Aurum metallicum (AUR). Trzy silnie rozcieńczone (6C, 30C i 200C) roztwory AUR zostały poddane analizie TEM przez dwa niezależne laboratoria, zlokalizowane w Rumunii i Turcji. Różne organizacje tych rozwiązań zostały potwierdzone przez oba laboratoria. Wybór tych stuletnich rozcieńczeń był motywowany potrzebą zbadania roztworów, zawierających niewielkie ilości substancji początkowej, nawet poza liczbą Avogadro (tj. Widma Ramana uzyskano również dla różnych potentyzowanych roztworów na bazie wody (woda oczyszczona (PW), woda nieoczyszczona (UW) i roztwór złota na bazie PW (AUR)) i przetworzono za pomocą algorytmów DL w celu zbadania zdolności modeli GRU do rozróżniania wszystkich tych roztworów i klasyfikowania próbek w badanych kategoriach (AUR, PW i UW) lub w ramach trzech poziomów potentyzacji (6C, 30C i 200C). DL został wykorzystany do oceny jego skuteczności dla klasyfikacji widm Ramana. Przyjmuje się, że wartości widmowe Ramana są wartościami szeregów czasowych-dłatego zastosowaliśmy powtarzającą się sieć neuronową. Przeprowadziliśmy eksperymenty z modelem GRU, ponieważ rozwiązuje on zarówno problem znikającego gradientu, jak i problem prędkości. W związku z tym przetestowaliśmy zdolność tego podejścia klasyfikacyjnego do zastosowania, w połączeniu ze spektroskopią Ramana, do analizy roztworów na bazie wody, uzyskanych po potencjalizacji. Nasze wyniki pozwoliły nam udowodnić, że ten zestaw metod (tem-EDX i spektroskopia Ramana w połączeniu z DL) może być z powodzeniem stosowany do charakteryzowania i różnicowania silnie rozcieńczonych roztworów, powstałych po obróbce potentyzacyjnej.

2. Materiał i metody

2.1. Materiały

Wszystkie badane roztwory zostały przygotowane przez firmę Korres (Ateny, Grecja), certyfikowaną przez Narodową Agencję Leków (EOF - Grecja). Rozwiązania te zostały wyprodukowane zgodnie z niemiecką Farmakopeą homeopatyczną (GHP), zgodnie z wytycznymi Dobrej Praktyki Produkcyjnej (GMP) [43] i biorąc pod uwagę procedury Farmakopei Europejskiej, dotyczące testów zgodności, z kilkoma wyraźnie wskazanymi wyjątkami. W szczególności wyjątki dotyczą rozpuszczalników, zastosowanych w końcowym etapie procesu przygotowania: 50% v/v etanolu dla roztworów na bazie etanolu i wody oczyszczonej dla roztworów na bazie wody. Roztwory podzielono na trzy grupy: woda oczyszczona (PW), woda nieoczyszczona (UW) i Aurum metallicum (AUR). Dla każdej kategorii przygotowano trzy poziomy mocy (6C, 30C i 200C), z trzema partiami każdego poziomu mocy produkowanymi w różne dni. Notacja C jest związana z rozcieńczeniem centezymalnym i oznacza 1 część stężonego roztworu / wcześniej potentyzowanego roztworu do 99 części eluentu (masa/masa).

W przypadku próbek PW i UW, celem było przygotowanie potentyzowanych roztworów, które są analogiczne do roztworów leczniczych pod każdym względem, z wyjątkiem braku aktywnego składnika leczniczego. PW (zgodność zgodnie z Farmakopeą Europejską-Ph.Eur.) jest zwykle stosowany do przygotowania leków homeopatycznych, podczas gdy UW jest częściowo oczyszczony. Typy wody zastosowane w tym badaniu miały następujące cechy, jak wskazała firma Korres: przewodność PW 0,7 – 0,88 $\mu\text{S}/\text{cm}$, pH 6,4–6,8, $\text{NO}_3^- < 0,2$ ppm i jony metali, Al < 3-5 ppb, As < 0,005 ppm, Pb 0,00032 ppm, Cd < 0,001 ppm, Hg < 0,0005 ppm (całkowite metale ciężkie 0,00682 ppm, limit < 0,1 ppm); uw– przewodność 196 $\mu\text{S}/\text{cm}$, pH 7,8, HCO_3^- - 66 ppm, Cl^- 22 ppm, NO_3^- 9,8 ppm, Na^+ 15 ppm, Ca^{2+} 10 ppm, Mg^{2+} 8,8 ppm, CO_2 9,7 ppm. Tak więc jako materiał wyjściowy zastosowano odpowiednio: wodę oczyszczoną i nieoczyszczoną. Woda oczyszczona została również wykorzystana w procesie rozcieńczania oraz, ze względu na szczególne cele eksperymentalne, w procesach przygotowania roztworów 30C i 200C PW i UW.

Dla kategorii AUR, metoda oparta na roztarciu Aurum metallicum z monohydratem laktozy, jako nośnikiem, była najpierw zastosowana do przygotowania potencji 4C; następnie, w celu uzyskania płynnej mocy 6C, według protokołu zastosowano wodę oczyszczoną (zgodność według Ph.Eur.) do wytwarzania potencji 5C i etanolu 30 % (m/m) do rozcieńczenia cieczy 6C. Począwszy od 6C aż do 29C, a zatem do C199, w procesie przygotowania użyto oczyszczoną wodę. Końcowe potentyzowane roztwory 30C i 200C wytworzono z etanolem 50 % (v/v) dla roztworów AUR na bazie etanolu. Ze względu na szczególne cele eksperymentalne, w procesach przygotowania roztworów AUR na bazie wody 30C i 200C zastosowano wodę oczyszczoną.

2.1.1. Transmisyjna mikroskopia elektronowa

Do badań TEM wykorzystano dwa rodzaje próbek AUR; pierwszy typ, AUR- przygotowany w 50% v/v roztworze etanolu, analizowano w Rumunii i oznaczono E-AUR, podczas gdy drugi typ AUR przygotowano tylko w wodzie oczyszczonej (PW) i poddano analizie w Turcji (oznaczono W-aur). Dla obu typów AUR zbadano trzy potencjalizowane próbki, a mianowicie 6C, 30C i 200C.

2.1.2. Badania Ramana

Do badań Ramana zastosowano trzy rodzaje roztworów: wodę oczyszczoną (PW), wodę nieoczyszczoną (UW) i AUR. Dodatkowo dla grup PW i UW rozważano próbki niepotencjonowane (próbki referencyjne typów wody użytych do procesu potentyzacji) oraz trzy rodzaje potentyzowanych próbek wody (6C, 30C i 200C); dla każdego rodzaju potentyzowanych próbek wody przygotowano trzy partie w trzech różnych dniach. Dla kategorii AUR badano tylko roztwory potentyzowane na bazie wody. Oznacza to łącznie 12 próbek dla PW, 12 próbek dla UW i 9 próbek dla AUR.

2.2. Metody

2.2.1. Rumuńskie procedury TEM i EDX

Charakterystyka strukturalna i morfologiczna próbek AUR została zrealizowana na skaningowym transmisyjnym mikroskopie elektronowym Hitachi HD - 2700 (STEM), wyposażonym w detektor elektronów wtórnych (SE), detektor elektronów przenoszonych (te) (Hitachi High Tech., Japonia) i pistolet do emisji zimnego pola, przeznaczony do obrazowania w wysokiej rozdzielczości (HRTEM)- z rozdzielczością 0,144 nm. Powlekanie węglem siatki TEM poddano obróbce 6 μ l potęgowanych roztworów AUR, które uprzednio poddano 10-krotnemu wstrząśnieniu w celu homogenizacji. Po 1-2 minutach nadmiar płynu osuszono bibułą filtracyjną Whatman klasy 1, a kratki pozostawiono do wyschnięcia na powietrzu. Próbkę analizowano za pomocą systemu STEM, pracującego przy 200 kV. Do badań EDX wykorzystano podwójny system EDX, składający się z krzemowego detektora dryfu X-Max N100TLE (SDD) (Oxford Instruments).

2.2.2. Tureckie procedury TEM i EDX

Obrazy TEM trzech mocy (6C, 30C i 200C) AUR uzyskano za pomocą Hitachi HT 7800-TEM, pracującego przy napięciu przyspieszenia 100 kV. Po 10-krotnym wstrząśnięciu każdej próbki, jedną kroplę upuszczano na siatkę, pokrytą węglem i pozostawiono do wyschnięcia w czystym środowisku. Analizę próbek EDX przeprowadzono przy użyciu Oxford Instruments x-MaxN, podłączonego do tego samego urządzenia TEM- w celu potwierdzenia obecności złota.

Histogramy, przygotowane zarówno dla rumuńskich, jak i tureckich obrazów TEM, zostały zrealizowane na podstawie danych, uzyskanych za pomocą oprogramowania ImageJ (NIH, USA).

2.2.3. Spektroskopia Ramana

Widma Ramana zostały zarejestrowane na spektrometrze Ramana NRS-3300 (Jasco, Japonia), wyposażonym w detektor ze sprzężeniem ładunkowym (CCD), wykorzystującym wzbudzenie laserowe 514,5 nm (Zielone światło). Roztwory analizowano w szklanych rurkach kapilarnych (Marienfeld, Niemcy) o średnicy 1,5–1,6 mm. Obiektyw Olympus UMPLFL 20X, krata 600 l/mm, szczelina 0,1 \times 6 mm, Czas ekspozycji 120 s i trzy skany zostały wykorzystane do zarejestrowania widm Ramana od około 72 cm^{-1} do 4020 cm^{-1} . Pik 521 cm^{-1} , odpowiadający Si, został użyty do kalibracji spektrometru. Surowe i hałaśliwe dane nie zostały odszumione ani wygładzone, a wartości odstające nie zostały usunięte ze zbioru danych. Wstępne przetwarzanie danych obejmowało dwa główne etapy i zostało zrealizowane za pomocą Spectra Manager (JASCO) i OriginPro 2023 (OriginLab Corporation). W pierwszym etapie wstępnej obróbki danych wybrano przedział liczby fal od 180 do 4000 cm^{-1} i ograniczono liczbę funkcji do poniżej 13 000, stosując metodę wielowypustową trzeciego rzędu o skoku danych 0,3. Dane te zostały następnie znormalizowane do 0,1 i uznane do badania DL za dane Ramana. Drugi krok obejmował proces odejmowania linii bazowej (BG), który został zastosowany w OriginPro do danych, uzyskanych przed normalizacją z pierwszego kroku.

W celu zastosowania procesu bg wykonano następujące kroki: tryb bazowy zdefiniowany przez użytkownika, metoda drugiej pochodnej (zera) do wykrywania punktów kontrolnych, snap to spectrum, metoda interpolacji liniowej i taka sama liczba punktów bazowych jak dane wejściowe [44]. Uzyskane dane zostały następnie znormalizowane [0,1] przed ich użyciem do konstruowania wstępnie przygotowanych zestawów danych bg dla badania DL.

2.2.4. Głębokie uczenie się

Badania DL przeprowadzono przy użyciu języka programowania Python i Colab Pro, który zapewnia przyspieszone środowisko obliczeniowe. Model GRU został zbudowany i przeszkolony przy użyciu biblioteki Keras 2.12.0. Procesor graficzny Colab Tesla T4 został wykorzystany do szkolenia modelu z dużym rozmiarem partii. Tesla T4 ma łącznie 2560 rdzeni CUDA, a także oblicza 3,7, 15 GB pamięci i GDDR6 VRAM. Dodatkowo Pakiet Sklearn 1.2.2 został wykorzystany do analizy i wyjaśnienia uzyskanych wyników. Więcej szczegółów, dotyczących protokołu dla badań DL przedstawiono w pliku materiałów uzupełniających oraz na Rys. 1 i 2.

3. Wyniki

Aby określić zdolność proponowanej przez nas metody do różnicowania charakterystyki różnych rozwiązań i mocy, najpierw postawiliśmy sobie za cel określenie właściwości próbek za pomocą analizy TEM.

3.1. Badania TEM

Tem jest cennym narzędziem, które dostarcza podstawowych danych na temat struktury nanomateriałów; ta wiedza jest bardzo ważna dla zrozumienia i rozwoju w materiałoznawstwie, a także dla dziedzin, wykorzystujących wysoce rozcieńczone roztwory, które również składają się z nanostruktur.

3.1.1. Aurum metallicum 6C

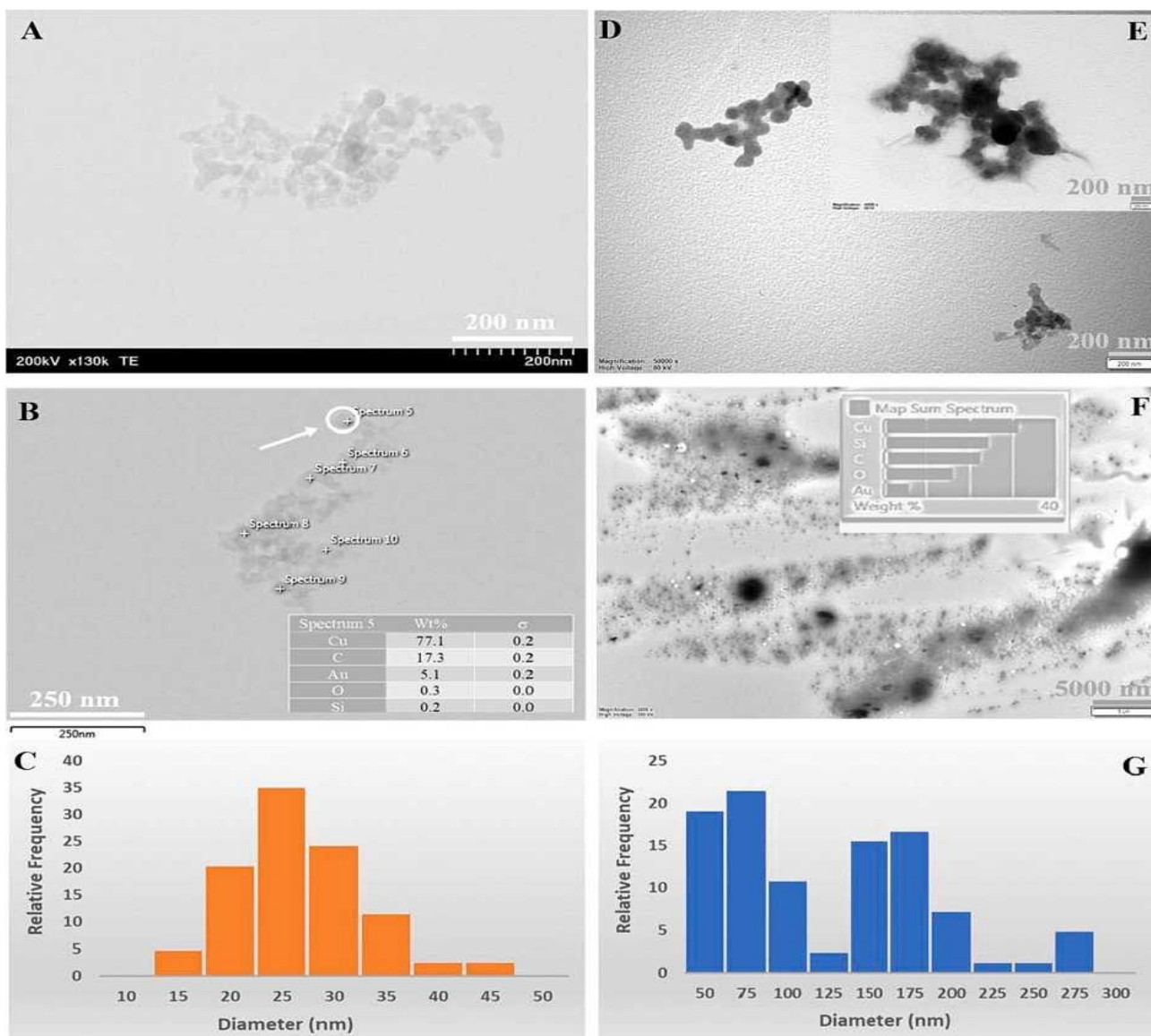
Rys. 1 przedstawia kilka obrazów TEM, uzyskanych za pomocą dwóch różnych instrumentów (patrz sekcja metody) dla mocy 6C AUR. Do przygotowania próbki zastosowano dwie różne pożywki – pierwszą pożywką był 50% roztwór etanolu v/v, który zastosowano do próbek AUR analizowanych w Rumunii (E-AUR 6C). Drugą pożywką była woda oczyszczona, która została zastosowana do próbek badanych w Turcji (W-AUR 6C).

Pomimo podstawowych różnic w rozpuszczalnikach, uzyskane obrazy TEM są dość podobne pod względem kształtu nanocząstek. Jednak rozmiar nanocząstek zależy od rodzaju rozpuszczalnika. Zostało to ujawnione na histogramach dwóch próbek, co wskazuje na mniejsze nanocząsteczki dla E-AUR 6C niż dla W-aur 6c (ryc. 1C i G), najprawdopodobniej dlatego, że etanol jest bardziej skuteczny jako środek stabilizujący niż woda. Dane EDX (wstawki z ryc. 1 i Fig. S3 i S4) wykazują porównywalne wartości procentowe złota (Au) w obu próbkach oraz obecność krzemu (Si) i tlenu (O) (miedź- Cu, pochodzi z siatki).

3.1.2. Aurum metallicum 30C

Ponadto badano moc 30C AUR;

Rys. 1 przedstawia obrazy TEM, dane EDX i wyniki mapowania tem-EDX dla tej mocy. W tym miejscu warto wspomnieć o podobieństwach między dwiema próbkami, E-OUR 30C I WAIT 30C, pod względem kształtu nanostruktury i wyglądu zanieczyszczeń.



RELATIVE FREQUENCY- częstotliwość względna

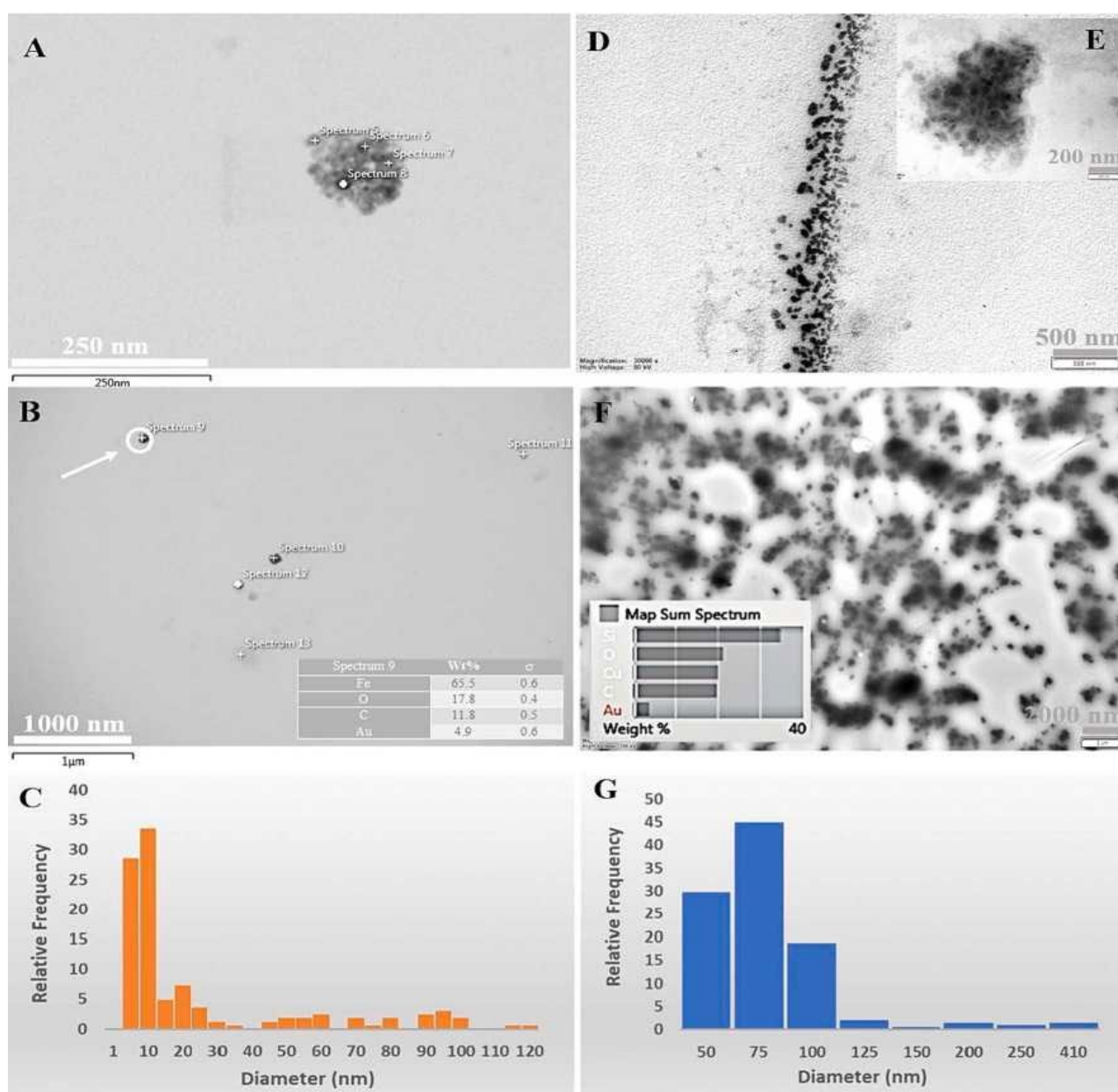
DIAMETER- średnica

Rys. 1. Dane TEM dla siły działania 6C AUR (A-C) obrazy TEM i histogram względnej częstotliwości rozmiarów nanocząstek dla próbek na bazie etanolu AUR i (D-G) dla próbek na bazie wody; DANE inset-EDX dla zaznaczonych punktów lub widma sumy.

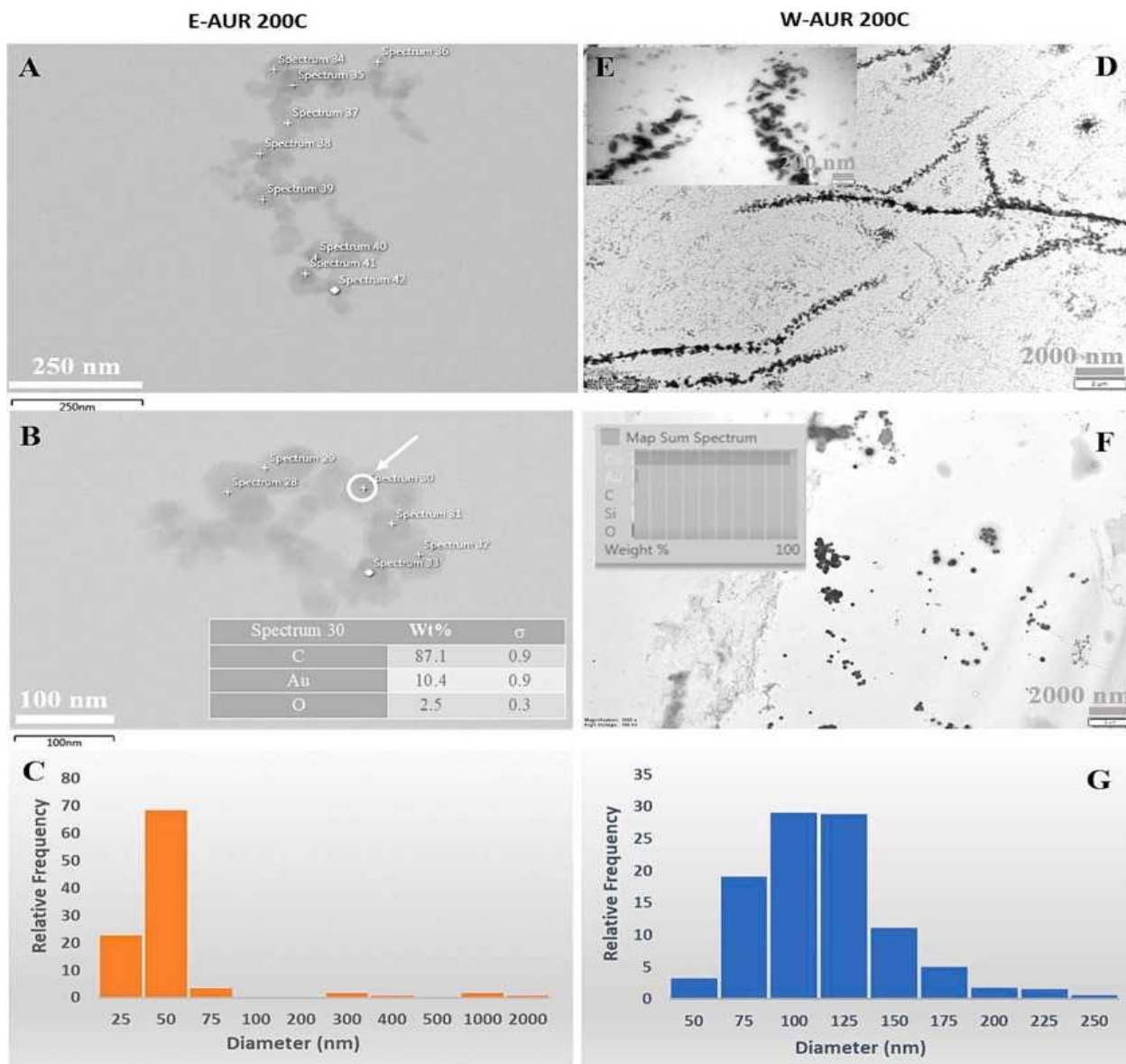
Podobnie jak w poprzednim przypadku, moc 6C, rozmiar nanocząstek/ nanostruktur o mocy 30C jest zwykle mniejszy dla E-AUR niż W-aur (ryc. 2 C I G); to zachowanie tłumaczy się zdolnością etanolu do działania jako skuteczny środek stabilizujący. Ponadto histogramy na ryc. 1, Fig. 2 wskazują mniejsze nanostruktury w E-AUR 30C niż E-AUR 6C i znaczny spadek wielkości o ponad 150 nm w stosunku do próbek na bazie wody; te duże struktury są wyraźnie widoczne w W-aur 6C, ale są widoczne tylko w śladowych ilościach w próbce w-aur 30C. Ta znacząca zmiana między profilami dwóch mocy, 6C i 30C, pojawia się po procesie potencjonowania, który obejmuje kilka kolejnych rozcieńczeń i wstrząśnień.

3.1.3. Aurum metallicum 200C

Charakterystyka mocy 200C jest zilustrowana na Rys. 3, a wyniki otrzymano przez analizę dwóch próbek (E-AUR 200C – przygotowany przy użyciu wodnego 50% v/v roztworu etanolu i W-aur 200C – otrzymany tylko z oczyszczoną wodą).



Rys. 2. (powyżej) Dane TEM dla mocy 30C AUR. (A-C) obrazy TEM i histogram względnej częstotliwości rozmiarów nanocząstek dla próbek na bazie etanolu AUR i (D-G) dla próbek na bazie wody; DANE inset-EDX dla zaznaczonych punktów lub widma sumy.



Rys. 3. Dane TEM dla mocy 200C AUR. (A-C) obrazy TEM i histogram względnej częstotliwości rozmiarów nanocząstek dla próbek na bazie etanolu i (D-G) dla próbek na bazie wody; DANE wstawkowe dla zaznaczonych punktów lub widma sumy.

Obecna jest również ogólna tendencja obserwowana dla mocy 6C i 30C; dokładniej, rozmiar nanostruktur w próbce E-aur 200C jest mniejszy niż w W-aur 200C, jak ujawniono na histogramach na ryc. 3. Co więcej, dla obu próbek 200C nanocząstki są większe niż nanocząstki, jakie obserwujemy przy rozcieńczeniu 30C; bardzo różnią się one rozmiarem oraz kształtem od nanocząstek przy sile 6C (Ryc. 1).

Wyraźna struktura i całkowity brak zanieczyszczeń wewnątrz niektórych zespołów klastrów AUR 200C są widoczne na Ryc. 3b, ponadto obie próbki AUR 200C wykazują preferencyjny rozgałęziony tryb montażu (rys. 3A i D), a obecność niewielkich ilości zanieczyszczeń, takich jak Si i Fe w tych klastrach, jest wykazana przez dane EDX przedstawione na Rys.3..

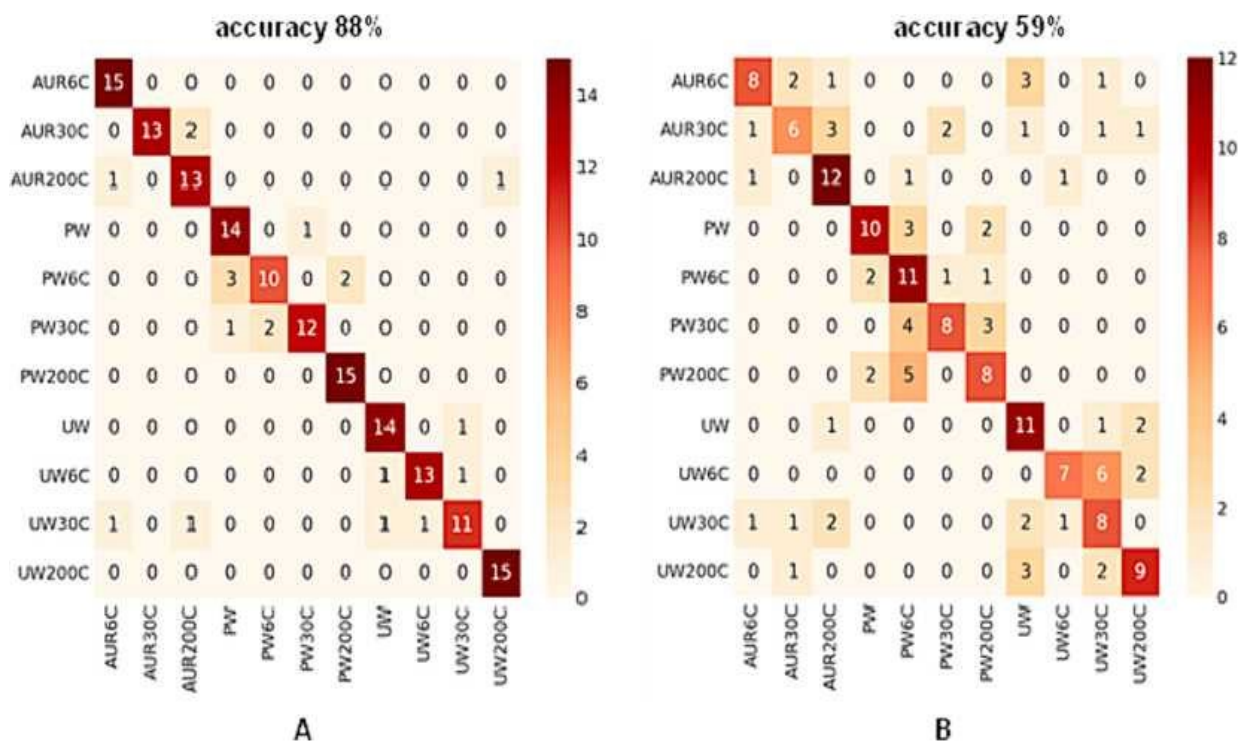
3.2. Spektroskopia Ramana i badania głębokiego uczenia się

Po przeprowadzeniu badań TEM do analizy badanych roztworów można rozważyć szybką i nieniszczącą technikę, taką jak spektroskopia Ramana. Ze względu na większe zespoły obserwowane w TEM dla próbek na bazie wody i biorąc pod uwagę specyfikę Ramana roztworów wodno-etanolowych, spektroskopię Ramana zastosowano tylko do roztworów na bazie wody. Celem było zbadanie przekształceń, które występują w trzech grupach/kategoriach: PW, UW i AUR. PW jest zwykle stosowany do przygotowania leku homeopatycznego, podczas gdy UW jest częściowo oczyszczoną formą wody; te rodzaje wody mają różne cechy. Tutaj odnotowujemy niską przewodność próbek PW (0,7–0,88 $\mu\text{S}/\text{cm}$) i ich niski poziom jonów ($\text{NO}_3^- < 0,2$ ppm, $\text{Al} < 3-5$ ppb, całkowite metale ciężkie 0,00682 ppm); ponadto próbki UW mają wyższą przewodność (196 $\mu\text{S}/\text{cm}$), a także wyższe stężenia różnych jonów (azotan, wodorowęglan, sód itp.). Zobacz sekcję Materiały i metody, aby uzyskać więcej informacji.

Potencjalizację zastosowano do próbek PW, UW i AUR, przygotowanych w trzech różnych dniach- w celu uzyskania trzech partii potencjalizowanych próbek o mocy 6C, 30C i 200C. PW i UW nie są generalnie potencjalizowane do komercjalizacji; procedura potencjalizacji została zastosowana tylko w przypadku tego badania. Tak więc 33 próbki przeanalizowano za pomocą spektroskopii Ramana. Każda próbka była analizowana w 5 punktach, w celu uzyskania reprezentatywnych danych badanych roztworów. Łącznie 165 widm Ramana (zakres 180-4000 cm^{-1}) zostało poddanych badaniu klasyfikacyjnemu. Surowe i wstępnie obrabione widma Ramana uzyskane podczas tego eksperymentu, dla różnych poziomów potencjalizacji (6C, 30C i 200C) badanych typów próbek (PW, UW i AUR), przedstawiono na Rys. S12-S17.

3.2.1. Klasyfikacja wszystkich rozcieńczeń przy zastosowaniu algorytmu głębokiego uczenia się za pomocą modelu GRU

Wyniki klasyfikacji widmowej Ramana dla 11 różnych klas uzyskanych przy użyciu wyszkolonego modelu GRU przedstawiono na ryc. 4; rozważono zarówno bezpretensjonalne, jak i wstępnie przygotowane zestawy danych bg.



ACCURACY- dokładność

Rys. 4. Macierz pomieszania modelu GRU dla (a) bezpretensjonalnych i (B) BG-wstępnie przetworzonych danych wszystkich badanych kategorii.

Tabela 1. Wyniki klasyfikacji uzyskane za pomocą nieobrobionych i poddane wstępnej obróbce linii bazowych (BG-poddane obróbce wstępnej) danych Ramana.

	GRU						SVM					
	nieobrobione		poddane obróbce				nieobrobione		poddane obróbce			
AUR 200C	0,88	1,00	0,94	0,73	0,53	0,62	0,64	0,60	0,62	0,35	0,40	0,38
AUR 30C	1,00	0,87	0,93	0,60	0,40	0,48	0,52	0,73	0,61	0,10	0,13	0,11
AUR 6C	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
PW 200C	0,83	0,67	0,74	0,46	0,73	0,56	0,53	0,53	0,53	0,50	0,53	0,52
PW 30C	0,92	0,80	0,86	0,73	0,53	0,62	0,65	0,73	0,69	0,50	0,40	0,44
PW 6C	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
UW 200C	0,93	0,87	0,90	0,78	0,47	0,58	0,64	0,60	0,62	0,58	0,47	0,52
UW 30C	0,85	0,73	0,79	0,42	0,53	0,47	0,50	0,40	0,44	0,29	0,27	0,28
UW 6C	0,94	1,00	0,97	0,64	0,60	0,62	0,80	0,80	0,80	0,55	0,40	0,46
ŚREDNIA MACRO	0,88	0,88	0,88	0,62	0,59	0,59	0,61	0,61	0,61	0,36	0,35	0,35
	dokładność 88%			dokładność 59%			dokładność 61%			dokładność 35%		

Wyświetlana jest macierz mieszana, aby przedstawić podsumowanie liczby przypadków, w których model GRU dokładnie lub błędnie przewidział wynik. Model wykazuje bardzo dobrą zdolność rozpoznawania w porównywaniu trzech badanych kategorii; w ten sposób wykazuje dużą skuteczność w rozróżnianiu kategorii AUR, PW i UW, gdy brane są pod uwagę bezpretensjonalne dane Ramana (ryc. 4a). W tym przypadku można zauważyć dokładność 88 % (Tabela 1); wartość tę można uznać za bardzo dobrą, zwłaszcza jeśli weźmie się pod uwagę duże podobieństwa między badanymi klasami. Ta wartość, która jest nieco mniejsza niż 90%, reprezentuje głównie wynik niewłaściwych przypisań wygenerowanych dla różnych poziomów potencjalizacji lub próbek referencyjnych, należących do tej samej kategorii; zarejestrowano tylko 3 błędne przypisania między trzema badanymi klasami - AUR, PW, UW (jedna próbka AUR200C była powiązana z UW200C, a dwie próbki UW30C zostały przydzielone odpowiednio do AUR6C i AUR200c).

Tak więc w przypadku kategorii AUR, pozostałe trzy błędne przydziały wynikały z podobieństw między różnymi poziomami potencjalizacji w grupie. Podobne zachowanie zaobserwowano również w grupach PW i UW. Nie stwierdzono błędów, związanych z różnicowaniem PW od próbek AUR lub UW.

W grupach PW i UW zaobserwowano prawidłowe rozpoznanie dla poziomu potencji 200C, podczas gdy dla pozostałych poziomów potencji błędnie przypisano do 5 próbek (maksimum to osiągnięto w klasie PW6C).

Jednak, gdy model GRU został zastosowany do zbioru danych BG-preprocesed, wyniki wykazały dokładność tylko 59 % (ryc. 4B i Tabela 1). Główne nieprawidłowe wyniki klasyfikacji uzyskano w trzech badanych grupach, ale były też błędne przypisania do próbek spoza właściwej grupy. Wyniki te pokazują, że słaba zdolność rozpoznawania modelu wynika z utraty informacji, która wystąpiła, gdy odejmowanie tła zostało zastosowane do danych Ramana. Grupy AUR i UW wydają się być najbardziej dotknięte (ryc. 4B).

Tabela 1 przedstawia dogłębną analizę wartości wydajności proponowanego podejścia. Wartości precyzji, wycofania i $f1$ dla każdej klasy zostały określone niezależnie. Wyniki eksperymentów wykazały, że wyniki makro $f1$ dla dwóch zbiorów danych wyniosły 0,88 i 0,59. Warto zauważyć, że kategorie PW, PW6C, PW30C i PW200C mają stabilne współczynniki rozpoznawania w obu zestawach danych. Biorąc pod uwagę wartości wycofania, model ma tendencję do niedoceniań dokładności klasyfikacji próbek UW30C. Z ustaleń można wywnioskować, że ogólnie rzecz biorąc, moc dyskryminacyjna tego modelu dla danych UW jest nieco ograniczona. Ponadto praca ta bada wykorzystanie dobrze znanego podejścia do uczenia maszynowego, w szczególności support vector machines (SVM), do kategoryzacji danych Ramana. W porównaniu z metodą głębokiego uczenia (GRU), tradycyjna technika uczenia maszynowego (SVM) dała najniższe wyniki dokładności dla dwóch zestawów danych.

Biorąc pod uwagę te wyniki, przeprowadzono bardziej dogłębne badanie, a mianowicie zastosowano inteligentne podejście do powiększania danych w celu zwiększenia rozmiaru zbioru danych. Tak więc, stosując strategię segmentacji widmowej, każde widmo Ramana zostało podzielone na mniejsze segmenty. Stwierdzono, że wymiary segmentu to 1×1024 . Na przykład, gdy wielkość próby zostanie ustalona na 1×12733 , uzyskuje się łącznie około

12 unikalnych segmentów. Oryginalny zestaw danych zawiera 15 instancji dla określonej klasy.

Po zakończeniu procedury segmentacji zbiór danych jest zmieniany do 1980×1024 i składa się z 11 różnych klas. Zatem wielkość próbek na klasę wynosi 180. Zbiór danych jest następnie dzielony na partycje, z 80% przeznaczonymi na szkolenie, a pozostała część zarezerwowana na cele testowe. Pięciokrotna alidacja krzyżowa została zastosowana do pomiaru wydajności naszego modelu GRU na uzyskanych zestawach danych segmentacji. Zgodnie z tym podejściem stwierdzono, że istnieje bezpośredni związek między zwiększeniem wielkości segmentu a spadkiem wydajności. Wyniki eksperymentalne przedstawione na ryc. S18 i tabela S1, uzyskane przez zaangażowanie próbek z zestawów testowych, pokazują, że nasz model GRU osiąga wysoki wynik dokładności 99,45% dla bezpretensjonalnych danych i doskonały wynik dokładności 100% dla danych wstępnie przetworzonych bg w 11 klasach. Nawet jeśli dalsze badania, tj. obejmując większą liczbę próbek, należy wykonać przed zaproponowaniem strategii segmentacji spektralnej jako najbardziej odpowiedniej dla eksperymentów zawierających dużą liczbę klas, strategię tę można uznać za cenne podejście do powiększania danych dla naszego typu danych.

3.2.2. Klasyfikowanie mocy w każdej grupie za pomocą głębokiego uczenia za pomocą modelu GRU

Wskaźnik rozpoznawalności uzyskany metodą DL w ramach każdej kategorii (AUR 6C, AUR 30C, AUR 200C, PW), (PW, PW 6C, PW 30C, PW 200C) oraz (UW, UW 6C, UW 30C, UW 200C) analizowano przy użyciu danych Ramana, poddanych obróbce bezpretensjonalnej i BG, a wyniki porównano pod względem wartości wydajności. Rys. 5 ilustruje wyniki eksperymentów po zastosowaniu warstwowej 15-krotnej walidacji krzyżowej (CV).

Dokładność 98%

AUR 6C	14	0	1	0
AUR 30C	0	15	0	0
AUR 200C	0	0	15	0
PW	0	0	0	15
	AUR 6C	AUR 30C	AUR 200C	PW

Dokładność 78%

AUR 6C	11	2	2	0
AUR 30C	2	10	3	0
AUR 200C	2	2	11	0
AUR	0	0	0	15
	AUR 6C	AUR 30C	AUR 200C	AUR

Dokładność 90%

PW	15	0	0	0
PW 6C	2	11	1	1
PW 30C	9	2	13	0
PW 200C	0	0	0	15
	PW	PW 6C	PW 30C	PW 200C

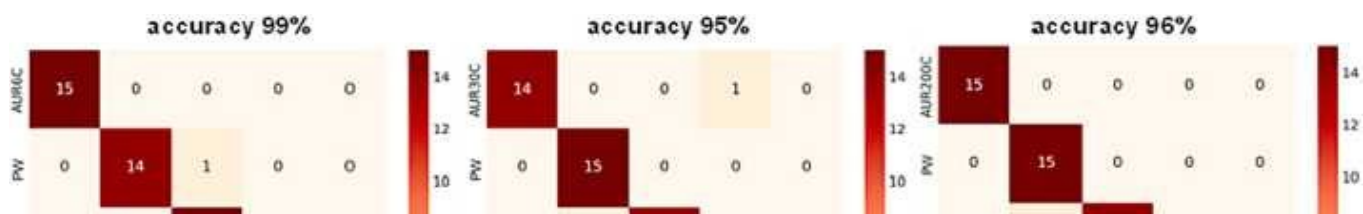
Dokładność 75%

PW	12	1	2	0
PW 6C	3	9	2	1
PW 30C	0	0	14	1
PW 200C	1	2	2	10
	PW	PW 6C	PW 30C	PW 200C

Dokładność 92%

UW	13	2	0	0
UW 6C	1	14	0	0
UW 30C	3	4	5	3
UW 200C	3	3	0	9
	UW	UW 6C	UW 30C	UW 200C

Rys. 5. Wydajność modelu głębokiego uczenia się do oceny dyskryminacji w każdej grupie przy użyciu (ABC) untreated i (DEF) BG-dane wstępne



ACCURACY- dokładność

Rys. 6. Wydajność modelu głębokiego uczenia się do oceny dyskryminacji na każdym poziomie wzmocnienia przy użyciu (A-B-C) bezpretensjonalnych i (D-E-F) BG-wstępnie przetworzonych danych.

4. Dyskusja

Konieczność znalezienia niezawodnych technik efektywnej charakterystyki ultrawysokich rozcieńczeń jest dobrze znana. W tym badaniu pokazujemy, że możliwe jest zastosowanie zestawu metod (tem-EDX i spektroskopia Ramana w połączeniu z DL) do udanej charakterystyki i różnicowania silnie rozcieńczonych roztworów, które są uzyskiwane po procesie potentyzacji. TEM-EDX można wykorzystać do oceny składu i morfologii dowolnego roztworu koloidalnego.

Pokazujemy tutaj, że ta technika jest skuteczna nawet w przypadku silnie rozcieńczonych roztworów, co pozwala nam uzyskać cenne informacje związane z każdym poziomem potencjalizacji i w ten sposób je rozróżnić, tworząc obraz, który mógłby być powiązany z każdym poziomem potencjalizacji.

Ogólnie rzecz biorąc, morfologia roztworu AUR 6C wydaje się być podobna do zwykłych roztworów koloidalnych nanocząstek złota [45]; wielkość nanocząstek złota zależy od charakteru surowców użytych w procesie syntezy. W przypadku pozostałych dwóch mocy

AUR, 30C i 200C, ich projekt wydaje się być regulowany przez prawo konstrukcyjne, które przewiduje strategiczną inżynierię nowych architektur na podstawie prawa fizyki [46].

Si i O to dwa pierwiastki wszechobecne w próbkach AUR 30C, natomiast wyizolowane nanocząsteczki, zawierające zanieczyszczenia takie jak żelazo (Fe), Tytan (Ti), wapń (Ca), magnez (Mg) i glin (Al) są widoczne w próbce E-AUR 30C, których składniki są mniejsze (ryc. 2 i Fig. S5-S7). Zanieczyszczenia te albo pochodzą z zastosowanego rozpuszczalnika, albo mogą powstawać podczas procesu potencjonowania poprzez rozpuszczenie w szklanych fiolkach (np. Si lub Ti). Powód, dla którego te zanieczyszczenia są tak widoczne w mocy 30C, można przypisać rozmiarowi składników środka, które są mniejsze niż składniki pozostałych dwóch mocy (6C i 200C), jak przedstawiono na histogramach z Rys. 1C i G, 2C i G oraz 3C i G. Ponadto profil nitkowaty, obserwowany w próbce W-AUR 30C (Fig. 2D), występowanie niektórych struktur opartych na węglu (C) w E-AUR 30C (ryc. S7B) oraz obecność złota w dwóch próbkach o potencji 30C (Ryc. 2) muszą być podświetlone.

Wszystkie te obserwacje przedstawiają inną strukturę dla mocy 6C i 30C AUR i wskazują na obecność zarówno nanocząstek, jak i zespołów klastrów w próbkach 30C. Zatem wyraźny kształt nanocząstek, zanieczyszczeń i zespoły nitkowate / klastrowe utworzone z małych struktur promują ideę, że przynajmniej dla AUR 30C, obserwowana struktura nie jest przede wszystkim związana z układami nanocząsteczkowymi, ale bardziej z dużymi zespołami (klastrami) małych struktur. Najprawdopodobniej klastry te zawierają również cząsteczki etanolu i wody (w e-AUR) lub wody (w W-AUR), podczas gdy zanieczyszczenia, izolowane lub połączone z tymi dużymi zespołami, pojawiają się jako nanocząstki (przezroczysty okrągły kształt i różne rozmiary). Chociaż złoto zostało zidentyfikowane we wszystkich badanych próbkach, wydaje się rozproszone na powierzchni siatki na obrazach mapowania tem-EDX.

Wyniki uzyskane dla próbek AUR 200C sugerują rozszerzoną organizację cząsteczek AUR 200C, wskazując na istnienie stabilnych i zorganizowanych struktur na większym obszarze. Zanieczyszczenia występują w postaci dużych zespołów, tak więc duże zanieczyszczenia (skala mikrometryczna), takie jak Si, Al, Fe i O, połączone ze sobą, można zobaczyć w wynikach mapowania tem-EDX. Profil nitkowaty można również zauważyć dla próbek W-aur 200C (Rys. 3A, 3D), jak również występowanie niektórych struktur opartych na węglu (C) w E-AUR 200C oraz obecność złota w dwóch typach badanych próbek 200C (Ryc. 3).

Niektóre z tych wyników są poparte literaturą; na przykład obecność złota, nawet przy wysokich mocach (30C i 200C) AUR, które są poza liczbą Avogadro, została również omówiona w artykułach Chikramane i in. [10] i Rajendran [47].

W pracy Chikramane i in., skład pierwiastkowy cząstek TEM zidentyfikowano za pomocą wybranej dyfrakcji elektronów obszarowych (SAED) i potwierdzono analizą ICP–AES [10]. Badanie Rajendrana podkreśla ideę, że nanocząstki znajdują się głównie w skali kropek kwantowych we wszystkich rozwiązaniach [47]; a rozmiary ich cząstek są w przybliżeniu podobne do naszych danych.

Ta nanocząsteczkowa perspektywa jest również poparta naszymi odkryciami, ale dodatkowo nasze wyniki pokazują, że struktura AUR łączy nanocząstki i układy klastrów złożone z mniejszych lub większych nanostruktur. Te układy klastrów są bardziej widoczne dla wysokich rozcieńczeń, które są poza liczbą Avogadro i są pod wpływem natury

rozpuszczalnika i poziomu potencji; im wyższa moc, tym bardziej rozgałęzione i większe są uformowane struktury. Rozszerzenie tej organizacji na duży obszar powinno prowadzić do struktur, które są bardziej stabilne i mogą być zgodne z konstrukcyjnym prawem projektowania i ewolucji w przyrodzie, jak opisali Bejan i Lorente [46].

Oprócz badania TEM-EDX zbadaliśmy, czy metodologia oparta na spektroskopii Ramana i DL jest w stanie sklasyfikować roztwory, które nie różnią się znacząco strukturą, takie jak i roztwory PW w porównaniu z roztworami UW, które wykazują subtelne różnice, ponieważ UW zastosowana w tych eksperymentach jest zasadniczo częściowo oczyszczoną wodą, używaną w kosmetyce oraz roztwory PW w porównaniu z roztworami AUR, gdzie różnice wynikają z obecności bardzo niskich stężeń złota w próbkach AUR. Co więcej, złożoność i dynamika struktur na bazie wody wywołują reakcję w badanym regionie Ramana (zwłaszcza zakres rozciągania OH), jak wykazał Sun [32] i kilku innych autorów [28], [29], [30], [31].

Wyniki uzyskane dla wszystkich trzech badanych sytuacji (klasyfikacja wszystkich klas, klasyfikacja potencji w każdej grupie (AUR, PW i UW) lub klasyfikacja w ramach tego samego poziomu potencji (6C, 30C i 200C) pokazują, że podejścia DL można wykorzystać do łatwego i skutecznego rozpoznawania różnych klas. W zbiorze danych z usuniętą linią bazową (a mianowicie BG-wstępnie obrobiony) model GRU nie jest w stanie uchwycić trendu danych w całości. Aby osiągnąć lepsze wyniki dla danych BG-wstępnie przetworzonych, zastosowaliśmy skwantowaną normalizację. Ponadto w tym przypadku technika normalizacji partii została zastosowana dopiero po końcowej gęstej warstwie modelu. Jako rozszerzenie obecnego badania można zaproponować model z dwoma etapami rozpoznawania. Pierwszy model byłby odpowiedzialny za określenie typu próbki, podczas gdy drugi model byłby w stanie rozdzielić próbki testowe na podklasy w ramach klasy typu próbki. Ta procedura zajmuje znacznie więcej czasu, ale uważa się, że daje lepsze wyniki. Ponadto, w oparciu o wyniki, uzyskane w badaniu dyskryminacji, obejmującym wszystkie 11 klas i podejście do powiększania danych, zastosowanie metody segmentacji widmowej może być postrzegane jako cenna strategia zwiększania dokładności przewidywania modelu.

5. Wniosek

Ogólnie rzecz biorąc, analizując wyniki uzyskane z TEM-EDX oraz metodologię, opartą na spektroskopii Ramana i algorytmach DL, możemy argumentować, że metody te można z powodzeniem zastosować do charakterystyki ultrawysokich rozcieńczeń. Ten zestaw technik ujawnił modalność, która może być podstawą do różnicowania wszelkich środków zaradczych, zgodnie z charakterem początkowych substancji, użytych do przygotowania środków zaradczych lub może pozwolić na zróżnicowanie próbek na podstawie ich poziomu nasilenia. Takie podejście pozwala na analizę silnie rozcieńczonych roztworów na znacznie większą skalę niż było to możliwe w przeszłości.

Oświadczenie o wykładzie autorskim

Camelia Berghian-Grosan: recenzja i edycja tekstu, pisanie-oryginalny projekt, adzór, metodologia, sprawdzanie i edytowanie danych, konceptualizacja . Sahin Isik: pisanie-

recenzja i edycja, pisanie - oryginalny szkic, oprogramowanie, metodologia. Alin Sebastian Porav: pisanie-recenzja i edycja, pisanie - oryginalny projekt, metodologia. Ilknur Dag: pisanie-recenzja i edycja, pisanie - oryginalny projekt, nadzór, metodologia. Kursad Osman Ay: pisanie-recenzja i edycja, pisanie - oryginalny projekt, metodologia. George Vithoulkas: pisanie-recenzja i edycja, pisanie - oryginalny szkic, metodologia, konceptualizacja.

Deklaracja konfliktu interesów

Camelia Berghian-Grosan i George Vithoulkas donoszą, że artykuł został opublikowany przez Międzynarodową Akademię Klasycznej Homeopatii. George Vithoulkas donosi o związku z międzynarodową Akademią Klasycznej Homeopatii, która obejmuje członkostwo w zarządzie. Jeśli są inni autorzy, deklarują, że nie ma między nimi konfliktu interesów, również tych finansowych ani relacji osobistych, które mogłyby wpłynąć na pracę opisaną w tym artykule.

Podziękowania

Autorzy składają podziękowania Międzynarodowej Akademii Klasycznej Homeopatii (I. A. C. H.) - Alonissos (Grecja), za wsparcie, udzielone podczas przeprowadzania wyszczególnionych w artykule badań oraz dr Drososowi Kourounisowi za jego sugestie i poprawki, które znacznie poprawiły jakość tego rękopisu. Specjalne podziękowania dla Korres Pharmacy i Pana Georg 'a Korresa (Grecja, www.korres.com) za wkład w przygotowanie roztworów homeopatycznych.

Dane szczegółowe będą udostępniane na żądanie.

Bibliografia:

[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 homoeopathic therapeutics

F.E. Boericke, Philadelphia (1889)

[4]

J.T. Kent, Lectures on Homoeopathic Materia Medica, reprint, B. Jain Publications, 2005.

[5]

G. Vithoulkas

Materia Medica Viva 1-3
Homeopathic Book Publishers, London (1995)

[6]

G. Vithoukas, *Materia Medica Viva 4-13*, International Academy of Classical Homeopathy, Alonissos, 1997-2021.

[7]

P. Nandy

A review of basic research on homoeopathy from a physicist's point of view
Indian J. Res. Homoeopathy, 9 (2015), p. 141, 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), pp. 4-21, 10.1016/j.homp.2013.08.003
[View PDF](#)[View article](#)[View in Scopus](#)

[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), pp. 15864-15875, 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), pp. 231-242, 10.1016/j.homp.2010.05.006
[View PDF](#)[View article](#)[View in Scopus](#)

[11]

G.S. Anagnostatos, G. Vithoukas, P. Garzonis, C. Tavouxoglou
A working hypothesis for homoeopathic microdiluted remedies
Br. Homoeopath. J., 81 (1992), p. 67, 10.1016/S0007-0785(05)80310-2
[View PDF](#)[View article](#)

[12]

M.O. Kokornaczyk, S. Würtenberger, S. Baumgartner
Impact of succussion on pharmaceutical preparations analyzed by means of patterns from evaporated droplets
Sci. Rep., 10 (2020), p. 570, 10.1038/s41598-019-57009-2

[13]

T.W. Randolph, E. Schiltz, D. Sederstrom, D. Steinmann, O. Mozziconacci, C. Schöneich, 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), pp. 602-611, 10.1002/jps.24259

[View PDF](#)[View article](#)[View in Scopus](#)

[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), pp. 1601-1612, 10.1002/jps.23973

[View PDF](#)[View article](#)[View in Scopus](#)

[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), pp. 9-15, 10.1089/acm.2007.0770

[View in Scopus](#)

[16]

V. Elia, M. Niccoli

New physico-chemical properties of extremely diluted aqueous solutions

J. Therm. Anal. Calorim., 75 (2004), pp. 815-836, 10.1023/B:JTAN.0000027178.11665.8f

[View in Scopus](#)

[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), pp. 196-201, 10.1016/j.homp.2008.08.008

[View PDF](#)[View article](#)[View in Scopus](#)

[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), pp. 223-239, 10.1016/j.homp.2017.08.001

[View PDF](#)[View article](#)[View in Scopus](#)

[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), pp. 244-263, 10.1055/s-0038-1666864

[View in Scopus](#)

[20]

F. Esposito, U. Wolf, S. Baumgartner

NMR relaxation time investigation of highly diluted aqueous solutions of silica-lactose
J. Mol. Liq., 337 (2021), Article 115975, 10.1016/j.molliq.2021.115975
View PDFView articleView in Scopus

[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), pp. 042-051, 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), pp. 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), pp. 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), Article 116365, 10.1016/j.mseb.2023.116365
View PDFView articleView in Scopus

[25]

E. Davenas, F. Beauvais, J. Amara, M. Oberbaum, B. Robinzon, A. Miadonnai, 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), pp. 816-818, 10.1038/333816a0
View in Scopus

[26]

G. Vithoukias
The controversy over the “Memory of Water”
Med. Sci. Hypotheses, 4 (2017), pp. 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), p. 8998, 10.1038/ncomms9998

[View in Scopus](#)

[29]

L.G.M. Pettersson, R.H. Henchman, A. Nilsson

Water-the Most Anomalous Liquid
Chem. Rev., 116 (2016), pp. 7459-7462, 10.1021/acs.chemrev.6b00363

[View in Scopus](#)

[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), pp. 2065-2073, 10.1039/C7SC04205A

[View article](#)[View in Scopus](#)

[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), pp. 7590-7607, 10.1021/acs.chemrev.5b00640

[View in Scopus](#)

[32]

Q. Sun

The Raman OH stretching bands of liquid water

Vib. Spectrosc, 51 (2009), pp. 213-217, 10.1016/j.vibspec.2009.05.002

[View PDF](#)[View article](#)[View in Scopus](#)

[33]

S. Guo, J. Popp, T. Bocklitz

Chemometric analysis in Raman spectroscopy from experimental design to machine learning-based modeling

Nat. Protoc., 16 (2021), pp. 5426-5459, 10.1038/s41596-021-00620-3

[View in Scopus](#)

[34]

C.M. Bishop
Neural networks for pattern recognition
Clarendon Press, Oxford (1995)
Google Scholar

[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, Á. 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 Gavà
J. Raman Spectrosc., 51 (2020), pp. 1563-1574, 10.1002/jrs.5509
View in Scopus

[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), pp. 1936-1954, 10.1021/acs.jcim.9b01037
View in Scopus

[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), Article 115796, 10.1016/j.trac.2019.115796
View PDFView articleView in Scopus

[39]

Y. Lecun, L. Bottou, Y. Bengio, P. Haffner
Gradient-based learning applied to document recognition
Proc. IEEE, 86 (1998), pp. 2278-2324, 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), p. 220, 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), pp. 1335-1347, 10.1098/rstb.2009.0302
View in Scopus

[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), pp. 48923-48927