

Caractérisation des dynamisations de Cuivre et de Gelsemium sempervirens préparés de manière Homéopathique traditionnelle.

**Michel Van Wassenhoven<sup>1\*</sup> M.D.**

<sup>1</sup>Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Santé, Commission des médicaments Homéopathiques, Bruxelles, Belgique.

\***Correspondances:** Michel Van Wassenhoven MD. FAMHP. Chaussée de Bruxelles, 128 b5, B-1190 Brussels, Belgique ; Tel. : +3223455803 ; E-mail [michelvw@homeopathy.be](mailto:michelvw@homeopathy.be)

## Extrait

Le projet DYNHOM a pour but d'étudier la nature des médicaments homéopathiques que nous utilisons chaque jour dans nos cabinets médicaux. Les techniques les plus modernes ont été mises en œuvre de manière systématique et complémentaire afin d'obtenir un faisceau cohérent d'informations sur nos remèdes. Sur base des connaissances homéopathiques étendues que nous avons de ces remèdes nous avons sélectionné comme références une souche métallique, le cuivre, et une plante Gelsemium sempervirens. De nos analyses nous pouvons déjà conclure que les remèdes homéopathiques ne sont pas « immatériels » mais que la très petite quantité de matière qu'ils contiennent ne permet de retenir l'hypothèse d'un effet moléculaire. Nous savons aussi que cette « matière » influence le comportement du solvant (RMN) mais pour répondre à la question de la spécificité de cette signature il faudra attendre les mesures encore en cours au moment de la mise sous presse de ce document. Au congrès national Espagnol de mai 2016 nous pourrions certainement répondre à cette question essentielle.

**Mots clefs:** Nanoparticules; Cuivre; Silice; Lactose; Homéopathie; Dynamisation, Spectrométrie de masse (SP-ICP-MS); Dynamic Light Scattering (DLS); Nanoparticle tracking analysis (NTA); Potentiel Zeta; Scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy SEM/EDX; Résonance magnétique nucléaire (RMN); Analyses électro-photonique (AEP); Chromatographie sensible (HPLC-UV).

## Introduction

Des études récentes indiquent que les médicaments préparés selon la méthode homéopathique (HMs) contiennent des nanoparticules de la souche (NPs) [1-4], des silicates [3,5-6] et d'autres structures moins bien caractérisées. L'Homéopathie est un système médical utilisé dans le monde entier depuis plus de 200 ans. Un audit récent de la littérature en double-insu [7-8] confirme une fois de plus un possible effet spécifique des traitements homéopathiques unitaires. Néanmoins, les sceptiques persistent à dire que les HMs sont des placebos ne contenant aucun matériel actif [9].

Ce débat entre possibilité et évidence [10] ne peut trouver réponse que par la recherche fondamentale. Les sceptiques ne considèrent que les dilutions au-dessus du nombre d'Avogadro et ignorent le processus de fabrication spécifique qui est plus qu'une simple dilution. Pour les insolubles il y a plusieurs étapes de triturations dans le lactose avant les « *dynamisations* » dans le mélange 'eau/alcool' qui est d'emblée mis en œuvre pour les substances solubles. Le processus de trituration est très bien défini dans la pharmacopée européenne (Ph-Eur 4.1.2), il est réalisé dans un mortier 100% porcelaine comme la spatule et le pilon. Le lactose est ajouté progressivement durant ce processus qui prendra bien une heure pleine avant de se terminer (trituration 1CH ou 2CH ou 3CH).

La dilution théorique 1C devrait contenir 1 part de la souche et 99 parts de lactose. Pour le matériel soluble, la dynamisation est réalisée dans un dynamiseur validé (contrôlé). La norme est de 100 chocs verticaux, calibrés, à chaque dilution. Le processus de dilution peut être d'une part de matière première pour 9 parts de solvant (dynamisation D ou X) ou 1 part de ce matériel pour 99 parts de solvant (dynamisation C). Les flacons répondent toujours aux normes internationales ISO-719, ISO4802-1, Ph-Eur 3.2.1. (verre pharmaceutique silicaté). Pour les dynamisations C on change de flacon à chaque étape. Pour une dilution théorique similaire une dynamisation K se réalise dans un flacon unique.

Des chercheurs en Nanotechnologie commencent à reconnaître un lien entre la méthode de préparation homéopathique traditionnelle et les nanotechnologies modernes de production de nanostructures à partir de matériel source insoluble [1-2,4]. Les méthodes d'identification utilisées par ces chercheurs étaient la microscopie électronique (TEM) et la spectrométrie de masse (ICP-AES). Ces auteurs ont identifié des particules métalliques « sources » irrégulières en concentration de l'ordre du pico-gramme/ml au nano-gramme/ml dans les plus hautes dynamisations homéopathiques pour 6 différents métaux (produits par des laboratoires homéopathiques) y compris le cuivre.

Le but de notre étude était donc au départ de répliquer ces résultats pour le cuivre. Les préparations ici n'étant plus industrielles mais fabriquées selon les bonnes pratiques pharmaceutiques (GPP) en pharmacie : dynamisations prévues pour le cuivre au départ = 4C, 5C, 6C, 7C, 30C and 200K versus les contrôles composés du solvant pur, du lactose dynamisé et du cuivre simplement dilué. D'emblée nous avons décidé aussi de vérifier les résultats de Prof. Demangeat qui avait distingué en analysant les temps de relaxation de l'eau (solvant) par RMN des différences entre les témoins et les solutions contenant soit un métal soit une plante. Ceci se faisant sur la série complète des dynamisations de 4CH à 30CH pour les matières insolubles au départ (cuivre) et 1CH à 30CH pour les matières solubles au départ (gelsemium). De plus nous voulions aussi vérifier par AEP si la signature lumineuse de la souche excitée électriquement pouvait confirmer ces résultats.

## **Matériel et Méthodes**

Raisonnement: Pour le cuivre, prévoyant la nécessité de détecter de basses concentrations de nanoparticules (NPs) de diverses grandeurs, de propriété de surface et de composition [2] nous avons d'abord utilisé la spectrométrie de masse (ICP-MS) mais ne trouvant pas ces NPs nous nous sommes tournés vers les techniques laser « Dynamic Light Scattering » (DLS), potentiel Zeta, « nanoparticle tracking analysis » (NTA) [4] et finalement la microscopie électronique au laser et rayon X « scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy » (SEM/EDX) avec comme but non seulement de photographier ces NPs mais aussi d'en déterminer la composition chimique. Pour le Gelsemium nous nous sommes adressés à la chromatographie sensible aux ultraviolets (HPLC-UV). Ensuite la mesure des temps de relaxation de l'hydrogène excité par RMN et l'AEP ont été appliquées aux deux souches afin de les comparer entre-elles.

Nous avons choisi le cuivre comme première souche car elle a déjà été étudiée par d'autres auteurs [1], le rôle du cuivre sur l'oxydation du cytochrome « C » est bien connu au niveau de la mitochondrie [11], et il existe une importante liste de publications sur ce remède homéopathique y compris une étude incontournable contrôlée versus placebo [12-27]. Pour le Gelsemium on en connaît aussi le

mécanisme d'action à un niveau génétique par les études « micro-arrays » déjà publiées et qui confirment les symptômes des matières médicales et des pathogénésies.

### **Manufacture Homéopathique des Médicaments**

Les médicaments et leurs contrôles ont été préparés en pharmacie spécialisée en homéopathie (Delvenne), le laboratoire est protégé par 2 flux lumineux validés (ISO 5) (B75/180). Pendant nos préparations aucune autre activité n'avait lieu dans ce laboratoire. Notre pharmacienne a suivi la pharmacopée Européenne qui décrit précisément le processus de fabrication traditionnel. Les triturations furent manuelles et suivirent les règles et contrôles standardisés de la bonne pratique pharmaceutique (GPP).

Chaque flacon est étiqueté avec le nom du produit, le niveau de dilution ou de dynamisation, le numéro du lot et le nom du pharmacien. Avant toute autre préparation, le flacon est occulté et protégé par une feuille d'aluminium.

### **Randomisation et tests à l'aveugle**

Pour les petites séries chaque flacon étant protégé par une feuille d'aluminium. L'auteur (MVW) apporte les échantillons au laboratoire sans enlever l'occultage des étiquettes et les présente dans un ordre aléatoire à l'analyse. Après mesures on enlève la feuille d'aluminium pour identifier l'échantillon. Pour les grandes séries ont a utilisé des tubes numérotés de manière aléatoire par un programme informatique. Le décodage ne se faisant alors que lorsque toutes les mesures ont été prises et envoyées au secrétariat.

### **Spectrométrie de masse: Single Particle-Inductively coupled plasma-mass spectrometry (SP-ICP-MS)**

Cette technique spectrométrique a été choisie pour son extrême sensibilité. Elle a été officiellement introduite en Belgique dans le cadre du projet d'étude des risques des nanoparticules : Nanorisk (RT 10/05 SPF public health authorities, food chain and environment safety) et a été réalisée par la société CODA-CERVA (Veterinary and Agrochemical Research Centre) qui est un établissement de recherche scientifique fédéral.

### **Dynamic Light Scattering (DLS)**

Ces mesures ont été réalisées par la société « SYSMEX Company » (Etten-Leur The Netherlands) importatrice des instruments « Malvern Instruments© » en Europe. On y a utilisé le "Malvern Zetasizer Nano ZSP (DLS)" mais nous avons dû filtrer les échantillons (filtre de 0,1µm) avant les mesures car sans cette filtration complémentaire il n'est pas possible d'obtenir des résultats valables.

### **Zeta-Potential (ZP)**

Avec le même "Malvern Zetasizer Nano ZSP" équipé d'une cellule spéciale on peut aussi mesurer les potentiels zêta des solutions. A l'opposé, ici si la solution est filtrée (0,1µm) il n'y a pas de résultat valide possible. Ainsi donc la présence d'autres particules que le cuivre (identifiées sous 100nm) jouent un rôle pour produire ces résultats significatifs.

### **Nanoparticle tracking analysis (NTA)**

Cette technologie ne permet pas de détecter des particules plus petites que 20nm. Ainsi uniquement les préparations non filtrées ont donné des résultats significatifs. Les minuscules particules de cuivre (1,5nm) tombent donc en dehors de la sensibilité de cette technique.

Ici aussi les mesures ont été réalisées par la société SYSMEX qui a utilisé pour cela le "NanoSight Malvern instrument" et son software. Les analyses mathématiques ont été réalisées par l'auteur mais contrôlées par l'équipe de recherche et des experts externes.

### **Scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM/EDX).**

Nous avons eu accès au microscope électronique laser "Tabletop Microscope TM3030Plus of Hitachi" également à la société SYSMEX. En plus de la visualisation des particules, cet instrument permet la détermination semi-quantitative des atomes présents dans l'échantillon avec une limite de profondeur de 2 microns.

Notre but était donc de déterminer la nature exacte des particules découvertes avec le DLS and NTA. On travaille ici avec des échantillons secs produits par lyophilisation réalisée à l'UCL (Université Catholique de Louvain - Belgique) sous la responsabilité de Prof. Joëlle Leclercq, doyenne de la faculté de pharmacie. Pour cuprum metallicum 4C nous avons lyophilisé 400cc (20 flacons contenant chacun 20cc de la dynamisation). La raison d'utiliser 20 flacons au lieu d'une grande bouteille est d'avoir des échantillons complètement comparables (aussi pour les silicates) à ceux utilisés pour le DLS et NTA. Pour cuprum metallicum 30C et 200K, 200cc ont été suffisants pour produire du résidu sec en quantité suffisante. 200cc des contrôles cuivre simplement dilué et eau dynamisée 30C ont également été lyophilisés.

### **Ultra High Performance Liquid Chromatography coupled with UltraViolet (HPLC-UV).**

Pour Gelsemium sempervirens, l'analyse progressive des dynamisations décimales successives est en cours de réalisation. Comme une plante contient de très nombreux composants (particules) différents nous suivons le marqueur légal (pharmacopée) la gelsemine mais aussi la sempervirine. Nous comparerons ainsi les concentrations dans la série dynamisée à celles de la série simplement diluée (contrôle). Nous travaillons ici avec des dilutions décimales (D ou X).

### **Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)**

Ici nous utilisons des séries complètes (1 ou 4CH à 30CH) numérotées de manière aléatoires des deux souches dynamisées comparées aux séries simplement diluées mais aussi à des séries de solvants (avec ou sans lactose). Les analyses sont terminées pour le cuivre mais pour Gelsemium et ses contrôles elles sont encore en cours à l'Université de Mons (Prof. Vanderelst). On mesure les temps de retour à leur état de relaxation (T1 et T2) des molécules d'eau après une stimulation par les protons émis par RMN ainsi que le rapport T1/T2. Chaque mesure est réalisée 3 fois de suite et on retiendra la moyenne comme valeur finale. Il faut environ 20 minutes pour une mesure, ceci explique donc qu'il faut plusieurs semaines avant d'obtenir les résultats. Les résultats ne sont pas encore tous disponibles au moment de cette mise sous presse mais le seront au moment de la conférence.

## **Analyse Electro-Photonique (AEP)**

Par les mesures précédentes, nous avons obtenus des informations sur l'état particulière de nos souches et par la RMN nous avons observé le comportement du solvant (eau). Il restait à analyser le comportement électronique de nos médicaments homéopathiques. Prof. Rey avait en effet pu observer par thermoluminescence que les plus hautes dynamisations pouvaient non seulement émettre la fréquence lumineuse de la souche mais aussi avec une intensité plus élevée que la souche concentrée. Cette technique est malheureusement compliquée à mettre en œuvre et fort onéreuse. L'AEP est beaucoup plus simple à utiliser, il s'agit de stimuler électriquement une goutte (ou un granulé imprégné) de l'échantillon et de photographier la lumière émise lors du retour des électrons « excités » à leur état « normal ». Il faut cependant une caméra spéciale permettant d'enregistrer non seulement le spectre de la lumière visible mais aussi celui de l'ultra-violet car plus de 80% de la lumière émise par une souche est dans ce spectre lumineux. Nous avons pu réserver cette machine pendant une semaine (du 10 au 15 avril 2016) pour réaliser plus de 500 mesures (Electro-photonique ingénierie Gaillac- France) sous la supervision de Prof. Henry de l'Université de Strasbourg. Les résultats vous seront communiqués à la conférence mais ne sont pas disponibles au moment de la mise sous presse de ce document.

## **Résultats**

### **Single Particle-Inductively coupled plasma-mass spectrometry (SP-ICP-MS)**

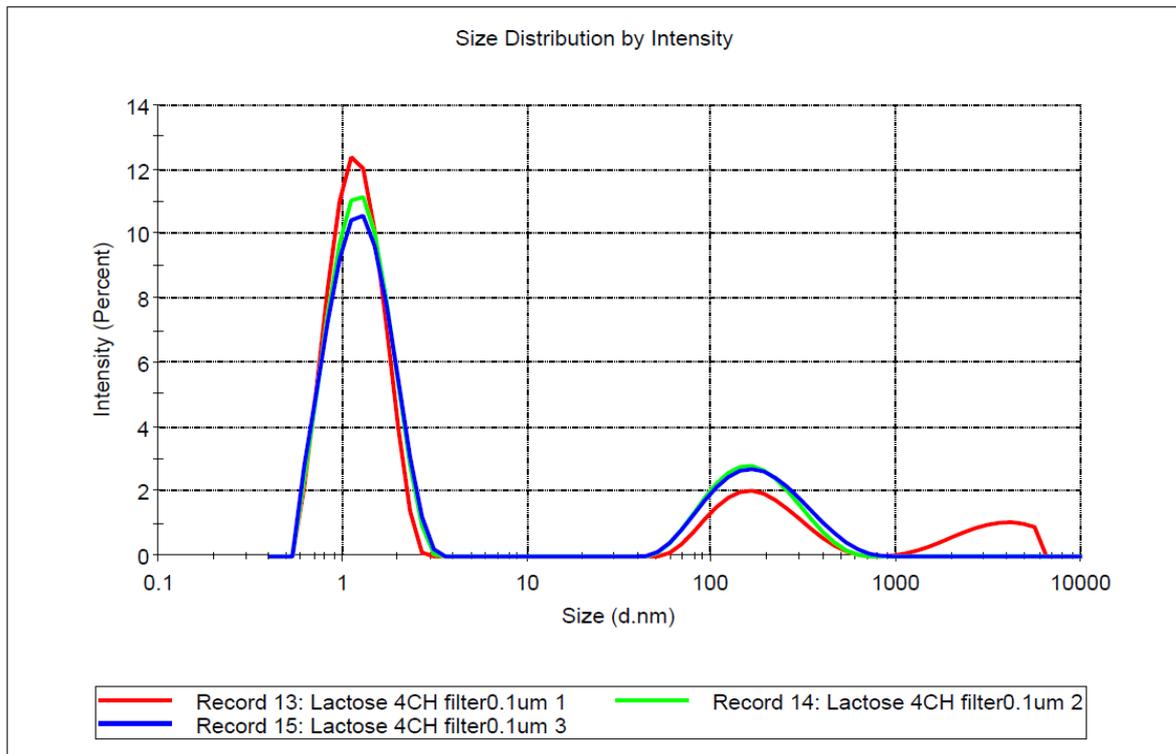
Plusieurs tentatives de mesures de l'échantillon cuprum metallicum 4C n'ont pas permis de trouver les particules de cuivre pourtant certainement présentes à cette dynamisation. Le lactose n'était pas le problème, il a seulement augmenté l'intensité du signal ICP-MS et avec un standard de calibration ce problème a été facilement contourné. Le facteur limitant était simplement la dimension trop petite des particules de cuivre dans cet échantillon. La limite de détection de la SP-ICP-MS pour le cuivre est en effet 45nm (52nm for Cu<sub>2</sub>O), par DLS on a déjà pu constater que les particules dans cet échantillon sont de l'ordre de 1,5nm. Nous n'avons pas pu confirmer les résultats obtenus par d'autres équipes sur des produits industriels [1].

### **Dynamic Light Scattering (DLS)**

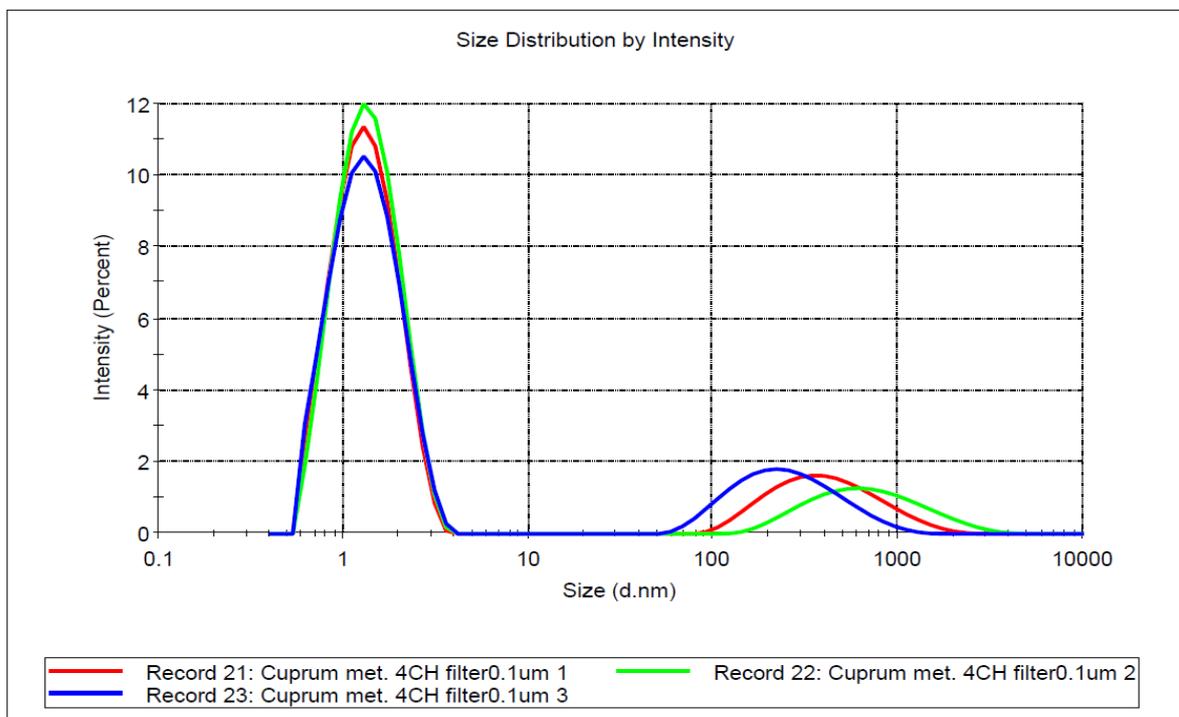
Il n'y a pas de résultat significatif si l'échantillon n'est pas filtré au préalable avec un filtre de 100nm. Il n'y a pas de particules détectables dans le contrôle eau initial (A), ni dans les Cuprum metallicum 5C jusque 30C ainsi que dans le 200K, ni de même dans le contrôle Lactose dynamisé 5C jusque 30C et un autre échantillon d'eau pré- et post-filtrée (0,1µm) (contrôle B) tout comme dans le Cuprum metallicum 3 and 4C ab trituration 1C.

Par contre des particules ont été détectées dans le contrôle Lactose 4C, le Cuprum metallicum 4C, le cuivre simplement dilué à un niveau correspondant à 4C ( $10^{-8}$ ), Cuprum metallicum 2C ab trituration 1C et les granules imprégnés avec Cuprum metallicum 4C.

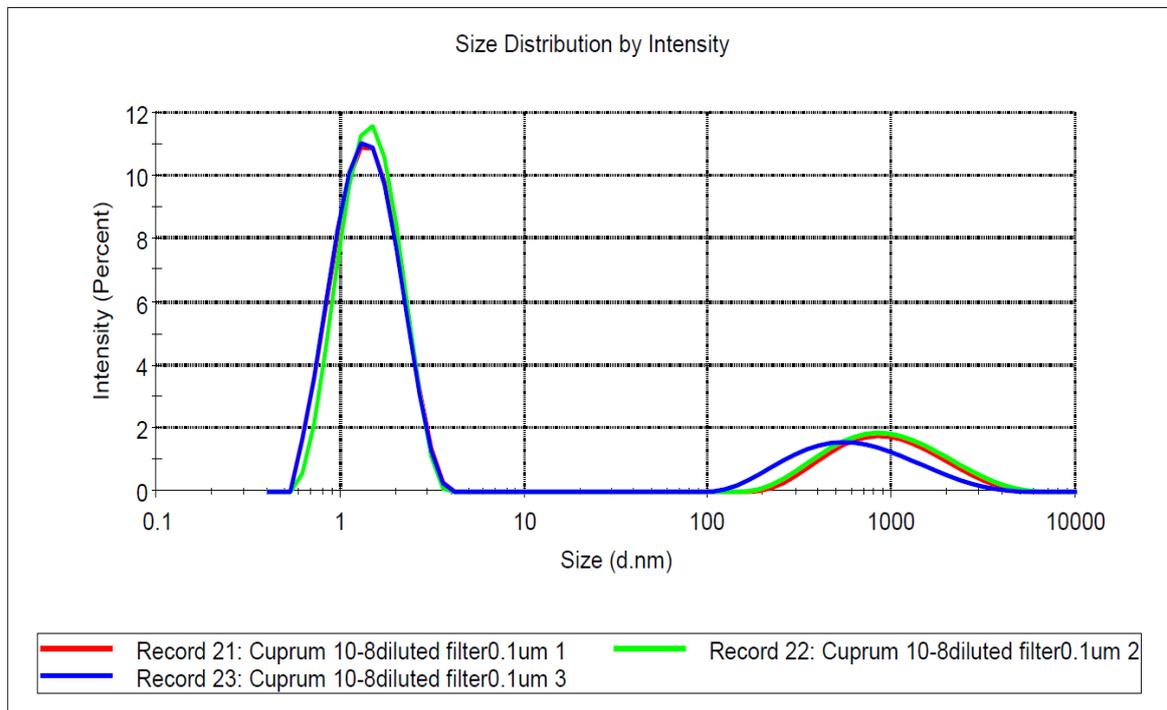
**Figure 1 : nanoparticles in Lactose control 4C in prefiltered water B, the peak between 0,8 and 1,8nm is significant, other bigger particles are present but in very low concentration/number.**



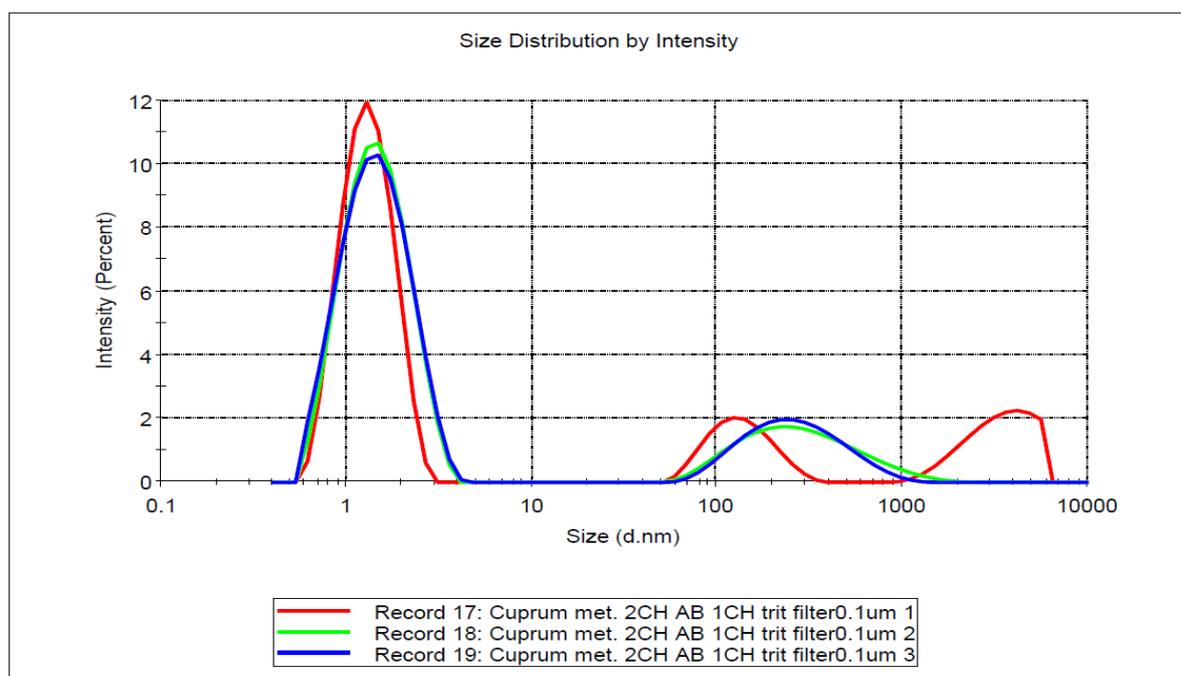
**Figure 2: nanoparticles in Cuprum metallicum 4C prepared in prefiltered water B from the third trituration (3C) in lactose, the peak between 0,5 and 2,5nm is significant, other bigger particles are present but in very low concentration/number.**



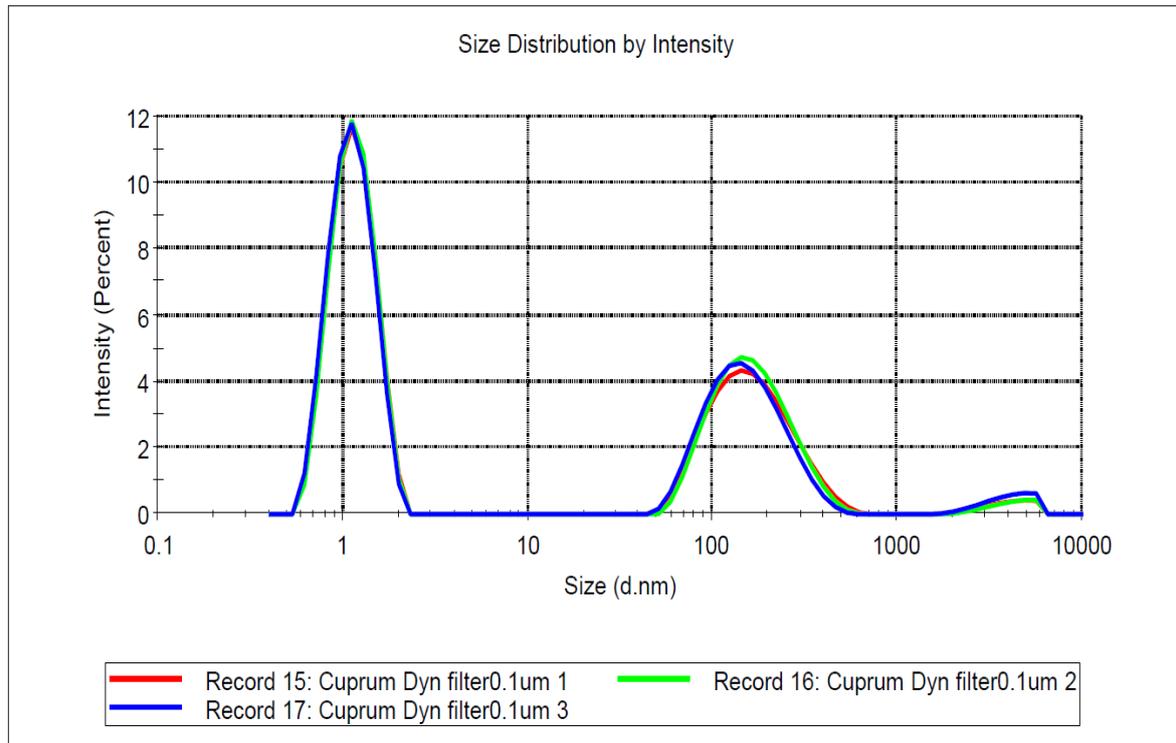
**Figure 3: nanoparticles in Cuprum metallicum  $10^{-8}$  prepared in water A from third simple dilution (without trituration) in lactose, the peak between 0,9 and 2,1nm is significant, other bigger particles are present but in very low concentration/number.**



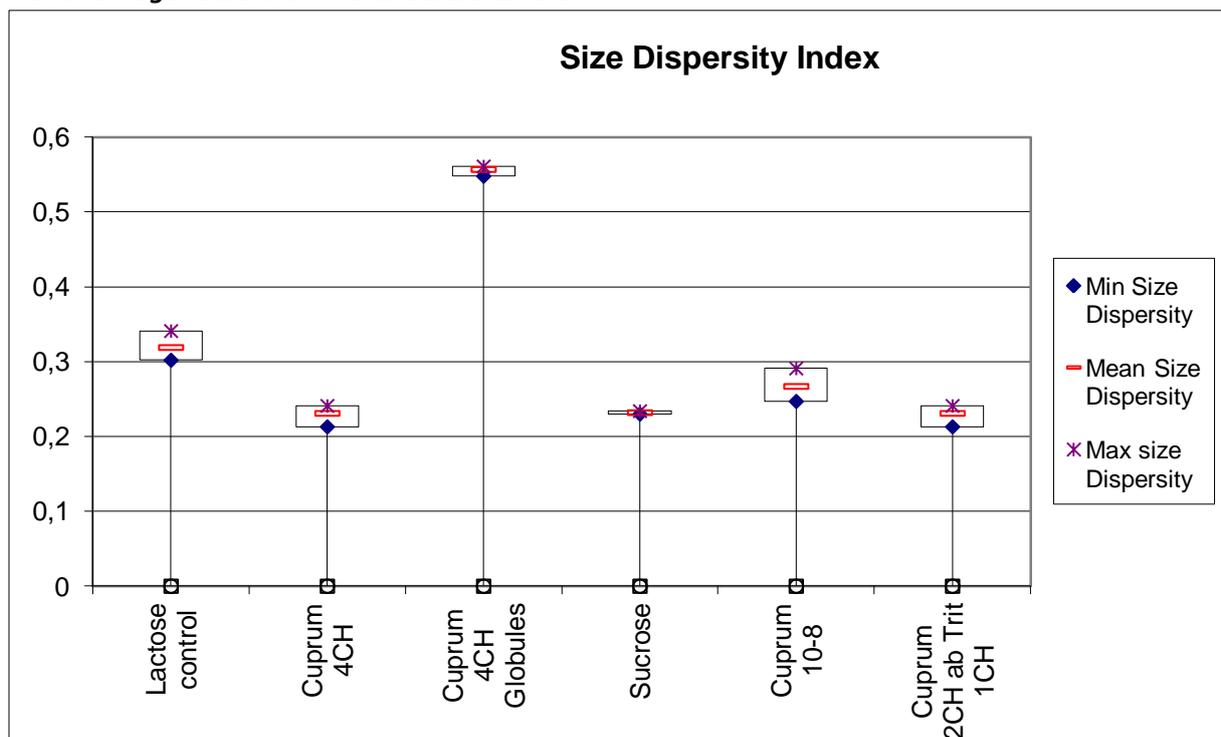
**Figure 4: nanoparticles in Cuprum metallicum 2C prepared in prefiltered water B from the trituration 1C in lactose, the peak between 0,9 and 1,95nm is significant, other bigger particles are present but in very low concentration/number. In de bottom of the bottle some shiny copper particles are seen (meaning big sized particles), they are not detected in this sample after pipetting for the DLS.**



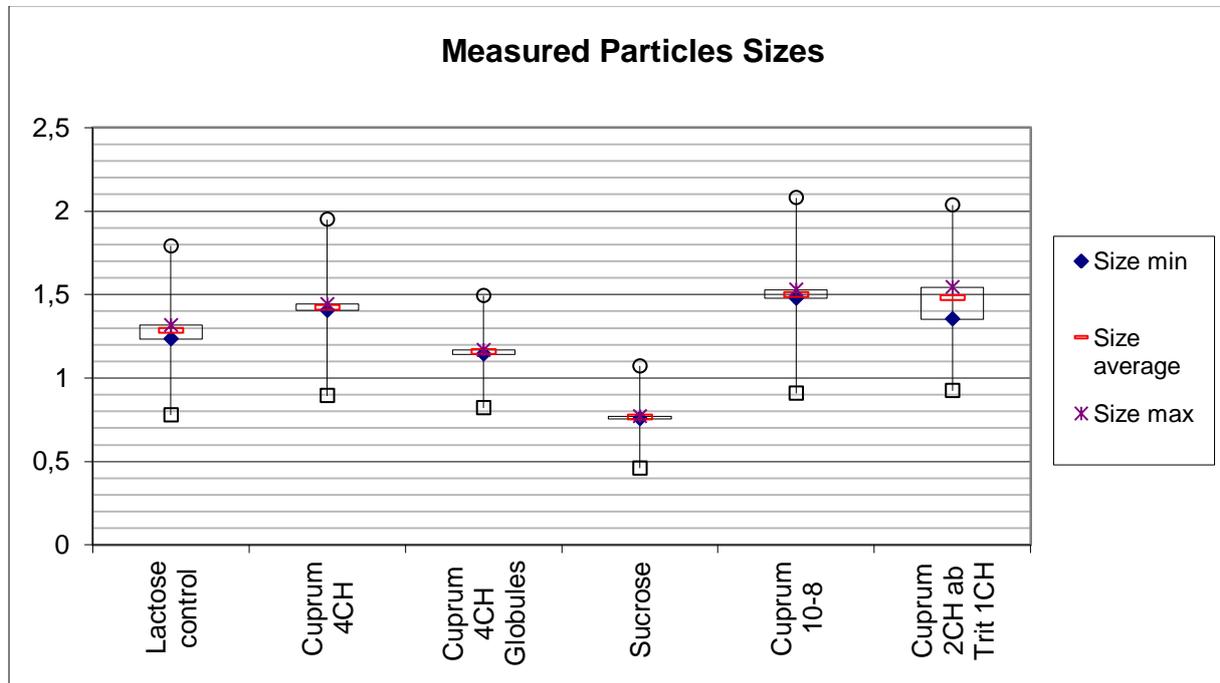
**Figure 5: nanoparticles in Cuprum metallicum 4C prepared in water A from the third trituration (3C) in lactose, impregnated globules, diluted again in water A and dynamized again, the peak between 0,8 and 1,8nm is significant, other bigger particles are present but in very low concentration/number.**



**Table 1: The PDI (Poly Dispersity Index) of DLS measurements shows that measurements are valid (>0,7 would indicate a too broad size distribution). The particles size distribution in Cuprum 4C is more homogeneous than in the lactose control.**



**Table 2: Regarding measured particles size in filtered samples, there is a difference between dynamized lactose control, Cuprum 4C, Cuprum simply diluted  $10^{-8}$  and Cuprum 2C ab trit 1C. There is also a difference in stability of the measurements between lactose control and Cuprum 4CH. Globules are not pure sucrose.**

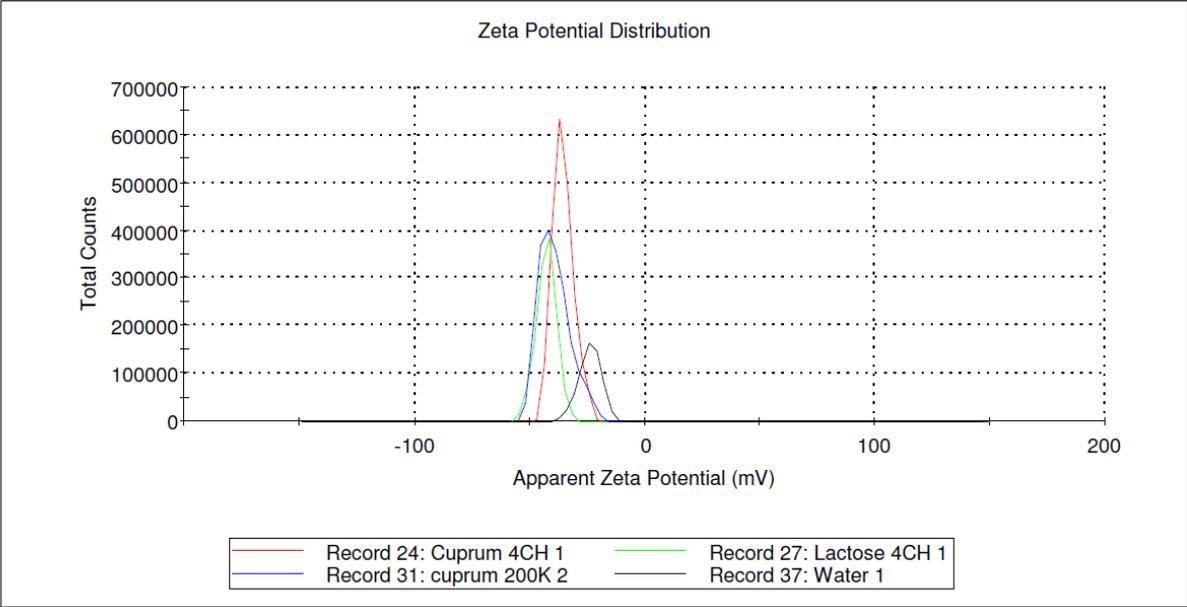


Suite à ces mesures et considérant que la SP-ICP-MS n'a pu détecter les particules du cuivre (dimensions en dessous de 45nm), nous pouvons conclure que le cuivre a été réduit à une dimension nano particulaire de l'ordre de 1,5nm. Ce niveau nano particulaire est remarquable et ne peut être expliqué que par un processus d'oxydation durant la trituration provoquant la formation d'oxyde de cuivre (Cu<sub>2</sub>O) suivi d'un processus de réduction suite à l'avidité intense du lactose pour l'oxygène, générant ainsi du cuivre élémentaire. Malheureusement la DLS ne peut différencier ces nanoparticules de cuivre à d'autres de dimension proche que l'on trouve aussi dans le lactose pur dynamisé. Lorsque le cuivre est présent la taille des nanoparticules est légèrement plus grande et l'index de dispersion est par contre moindre ce qui permet de suspecter la présence de ce cuivre. Cette méthode ne permet cependant pas de détecter des particules lorsque la dynamisation dépasse 4C. Les granulés imprégnés avec cuprum metallicum 4C se différencient du saccharose ou lactose pur. Les particules du cuivre simplement dilué (non dynamisé) ne se différencient pas du contrôle lactose ou du cuprum metallicum 2C ab trituration 1C.

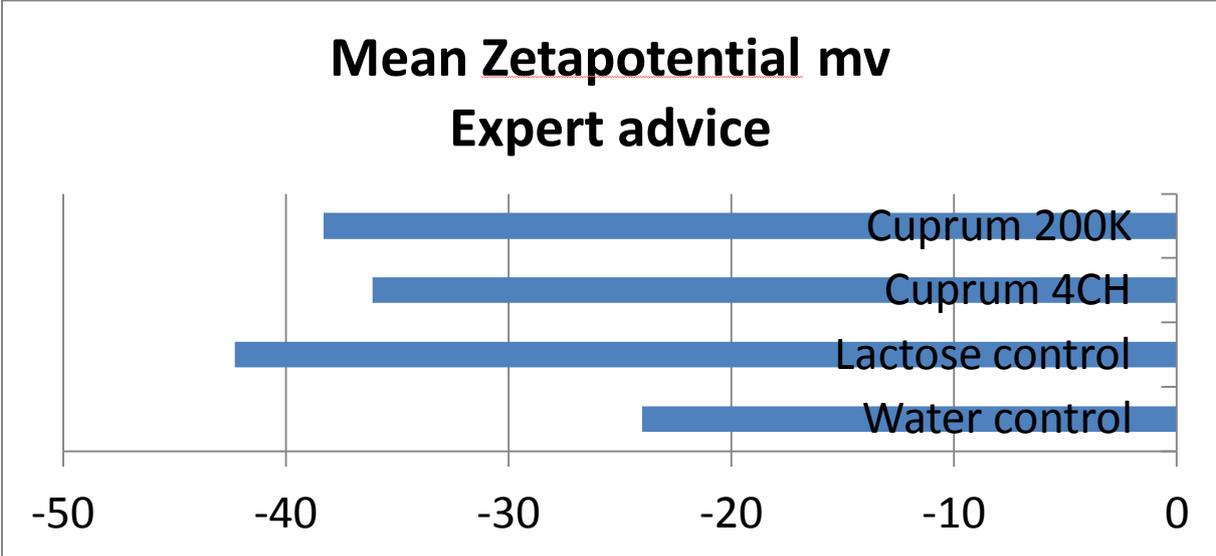
### Zeta-Potential (ZP)

Par cette méthode qui mesure la charge électrique autour des particules on constate une différence en potentiel zêta entre le contrôle « eau » et toutes les autres préparations. Le contrôle lactose dynamisé se différencie du cuprum metallicum 4C mais pas du cuprum metallicum 200K.

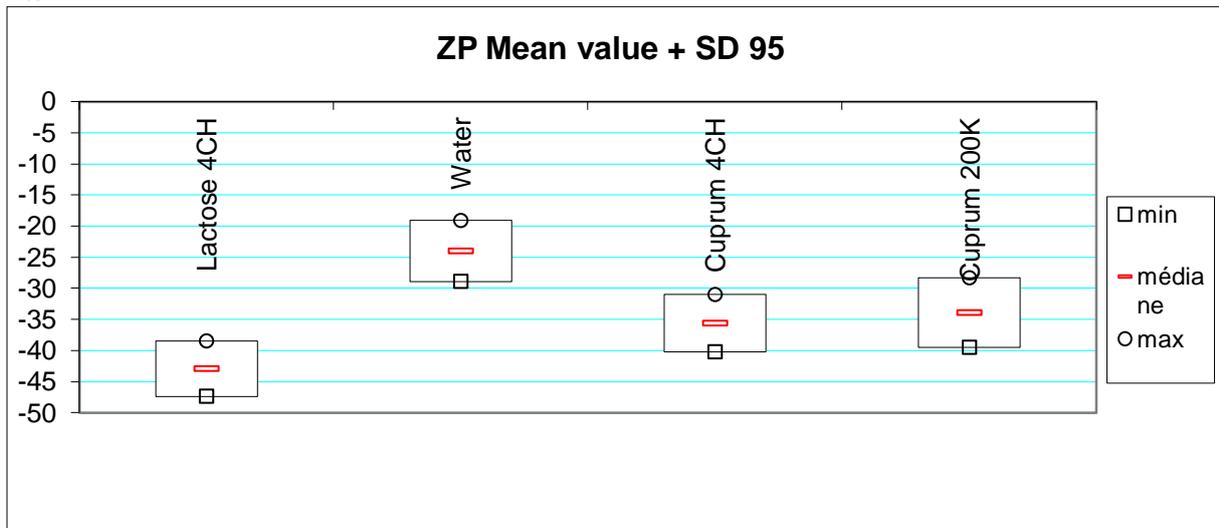
**Figure 6: Zeta potential Cuprum 4C median values -35,6mV, lactose -42,9mV, Water -24mV, Cuprum 200K -39,3mV. Note also that the total counts is significant higher and valid for Cuprum 4C.**



**Tabel 3: The mean zeta-potential values are calculated taking into account the expert advice of the Malvern program. A clear difference exists between water control and all other values. A possible difference exists between lactose control and the cuprum 4C, this difference is questionable for the 200K.**



**Table 4: Comparing mean zeta-potential values and standard deviations (SD 95). The clear difference between water control and other values can be validated.**



En valeur absolue, cette différence en potentiel zêta entre le contrôle lactose control et Cuprum 4C peut être mise en question mais la validité des mesures (nombre de comptage) est plus élevée pour Cuprum 4CH. Selon l'avis expert sur la validité de ces mesures il existe bel et bien une différence. Plus de mesures et d'autres méthodes sont nécessaires afin d'expliquer cette interaction entre les nanoparticules de cuivre et d'autres particules de plus grande dimension.

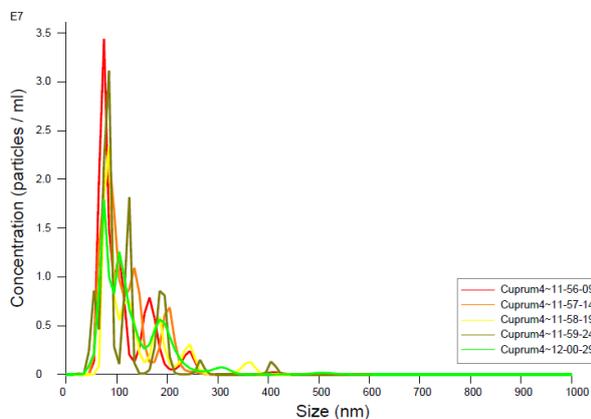
### Nanoparticle tracking analysis (NTA) or Nano-sight

Les mesures et images en NTA révèlent la présence de particules dans toutes les dynamisations même les plus hautes, mais la fiabilité de ces mesures diminue avec le niveau de dynamisation. La taille et la dispersion des particules augmentent progressivement. Les contrôles sont ici le cuivre simplement dilué et le lactose dynamisé. Il n'y en a pas dans le contrôle « eau » pure.

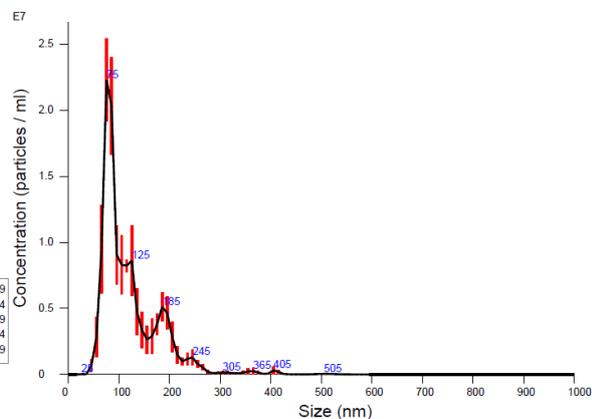
**Figure 6: Particles detected in unfiltered Cuprum metallicum 4C by successive measurements.**

# NANOSIGHT

Cuprum4CH 2015-07-23 11-56-02



FTLA Concentration / Size graph for Experiment:  
Cuprum4CH 2015-07-23 11-56-02

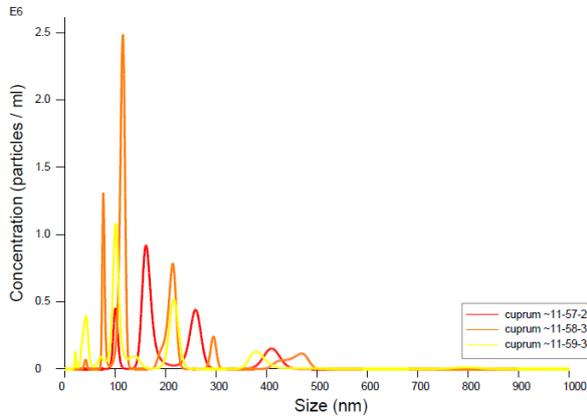


Averaged FTLA Concentration / Size for Experiment:  
Cuprum4CH 2015-07-23 11-56-02  
Error bars indicate + / -1 standard error of the mean

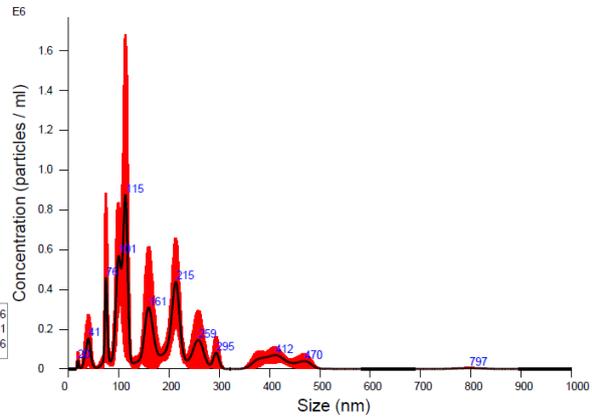
**Figure 7: Particles detected in unfiltered Cuprum metallicum 5C by successive measurements.**

**NANOSIGHT**

cuprum 5CH 2015-11-17 11-55-06



FTLA Concentration / Size graph for Experiment:  
cuprum 5CH 2015-11-17 11-55-06

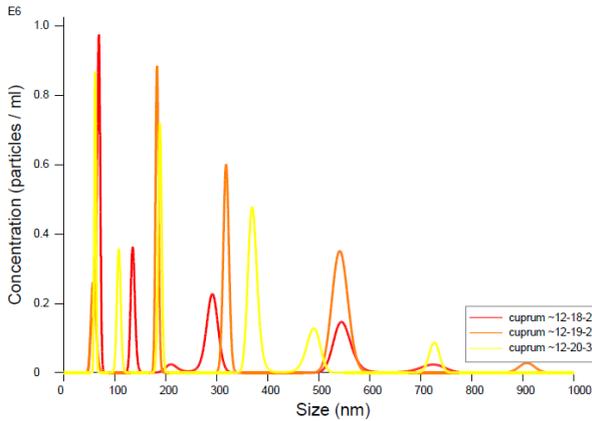


Averaged FTLA Concentration / Size for Experiment:  
cuprum 5CH 2015-11-17 11-55-06  
Error bars indicate + / - 1 standard error of the mean

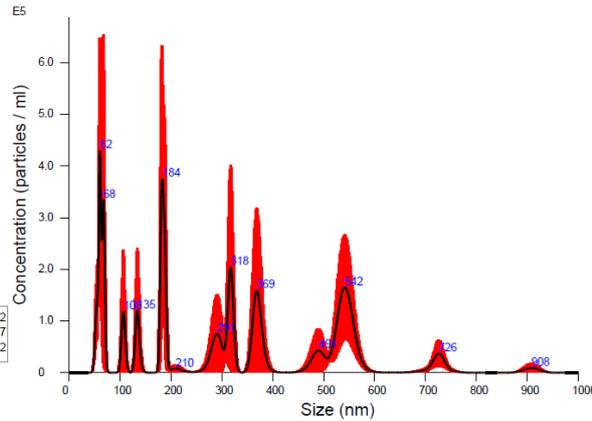
**Figure 8: Particles detected in unfiltered Cuprum metallicum 6C by successive measurements.**

**NANOSIGHT**

cuprum 6CH 2015-11-17 12-16-09



FTLA Concentration / Size graph for Experiment:  
cuprum 6CH 2015-11-17 12-16-09

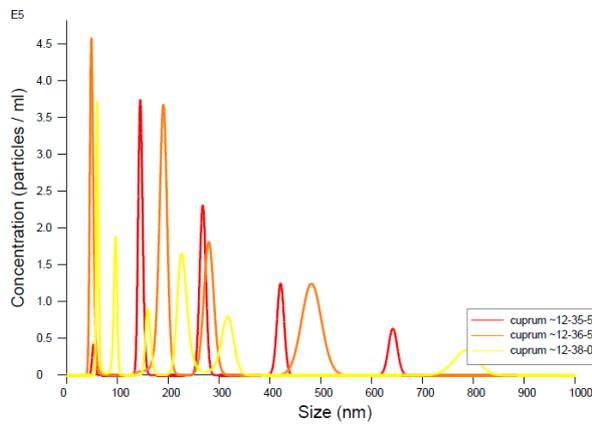


Averaged FTLA Concentration / Size for Experiment:  
cuprum 6CH 2015-11-17 12-16-09  
Error bars indicate + / - 1 standard error of the mean

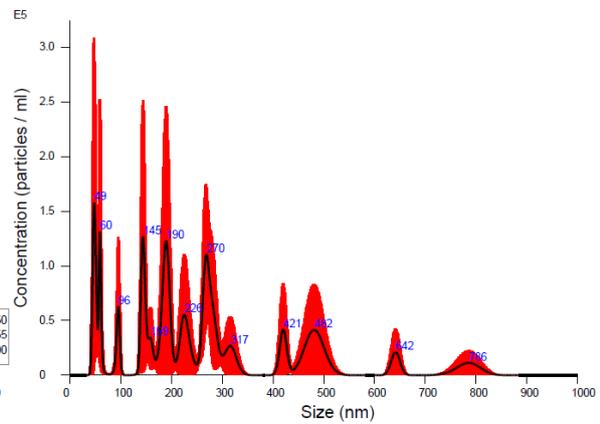
Figure 9: Particles detected in unfiltered Cuprum metallicum 7C by successive measurements.

**NANOSIGHT**

cuprum 7CH 2015-11-17 12-33-35



FTLA Concentration / Size graph for Experiment:  
cuprum 7CH 2015-11-17 12-33-35

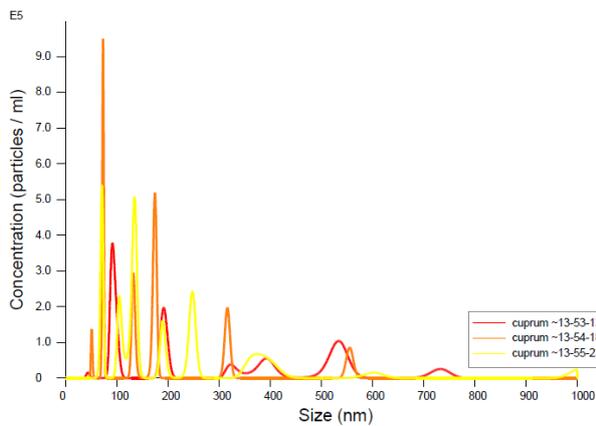


Averaged FTLA Concentration / Size for Experiment:  
cuprum 7CH 2015-11-17 12-33-35  
Error bars indicate + / - 1 standard error of the mean

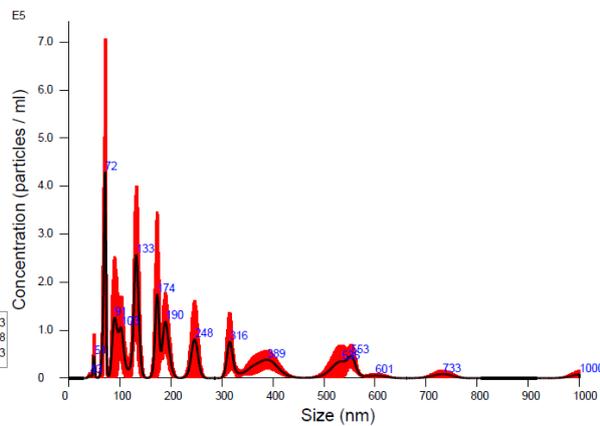
Figure 10: Particles detected in unfiltered Cuprum metallicum 30C by successive measurements.

**NANOSIGHT**

cuprum 30CH 2015-11-17 13-50-54



FTLA Concentration / Size graph for Experiment:  
cuprum 30CH 2015-11-17 13-50-54

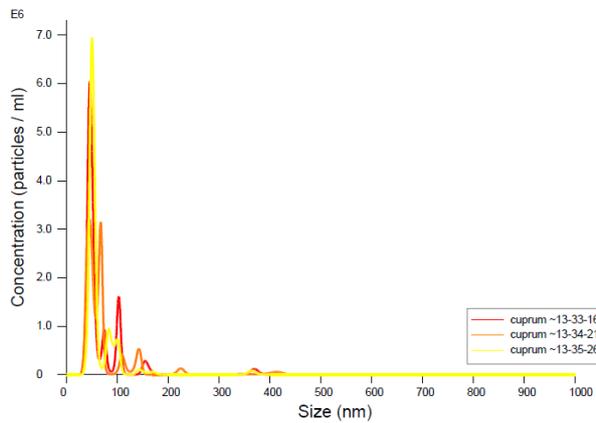


Averaged FTLA Concentration / Size for Experiment:  
cuprum 30CH 2015-11-17 13-50-54  
Error bars indicate + / - 1 standard error of the mean

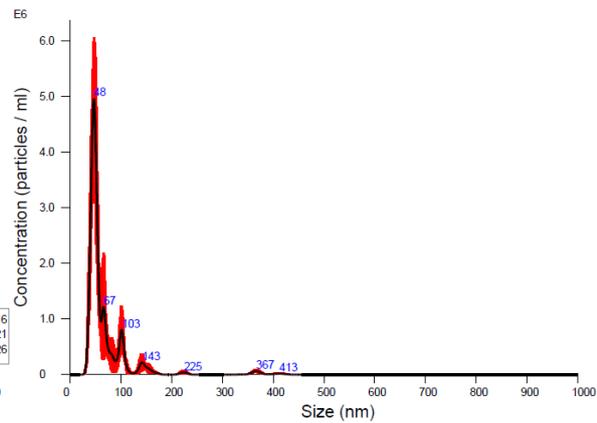
Figure 11: Particles detected in unfiltered Cuprum metallicum 200K by successive measurements.

# NANOSIGHT

cuprum 200K 2015-11-17 13-30-52



FTLA Concentration / Size graph for Experiment:  
cuprum 200K 2015-11-17 13-30-52

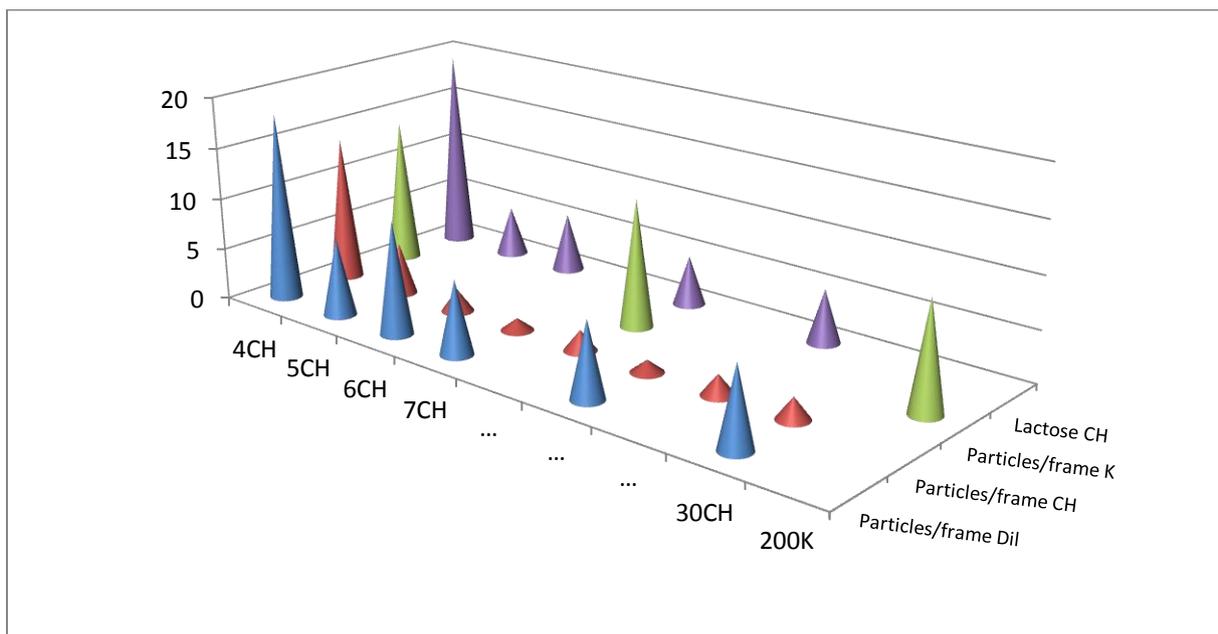


Averaged FTLA Concentration / Size for Experiment:  
cuprum 200K 2015-11-17 13-30-52  
Error bars indicate + / -1 standard error of the mean

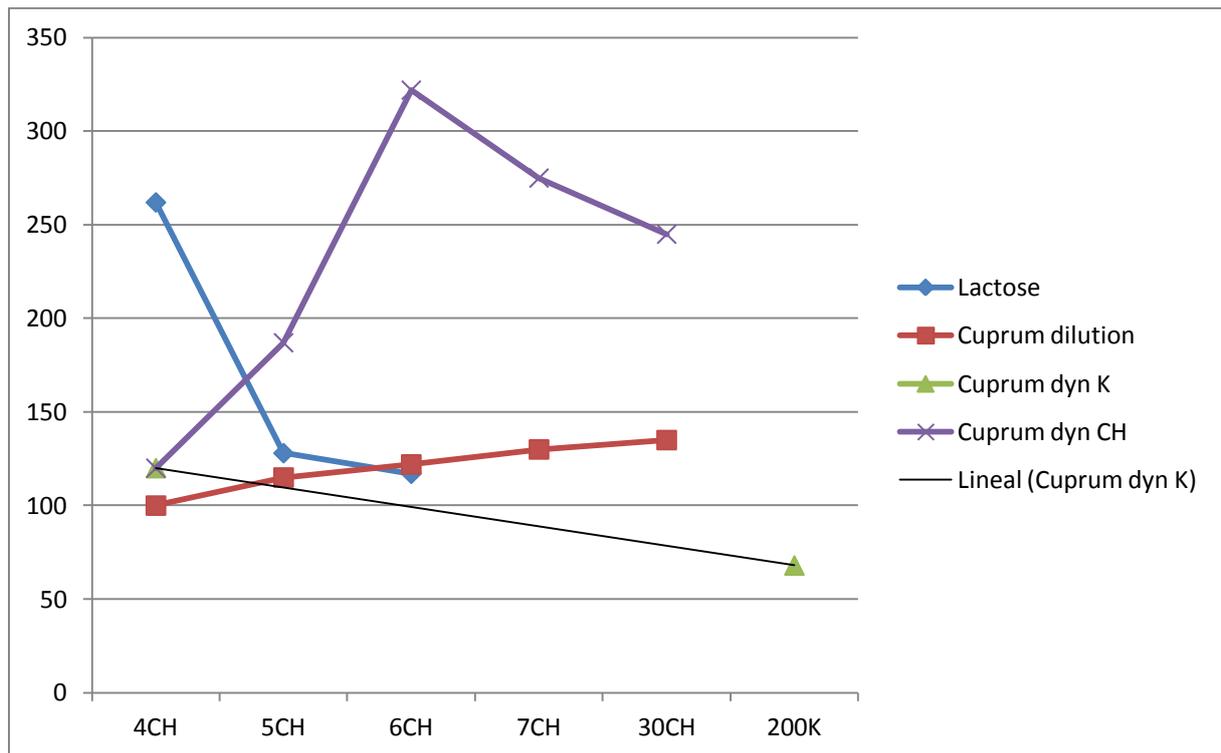
## Concentration et tailles des Nanoparticules

Le facteur de dilution théorique est de 1/100 depuis la 4C et pourtant le facteur de dilution des particules réellement mesuré à la 5C n'est que de 2/3. Pour la 6C ce facteur n'est plus que de 1/2. Par la suite, on est à la limite des concentrations mesurables mais il n'y a plus de réelle déconcentration. Pour la 200K (facteur de dilution théorique  $10^{-400}$ ), la concentration en nanoparticules mesurée n'est que de 1/3 par rapport à la dynamisation de départ 4C (résultat vérifié à plusieurs reprises). Ces résultats demandent à nouveau une vérification par d'autres méthodes.

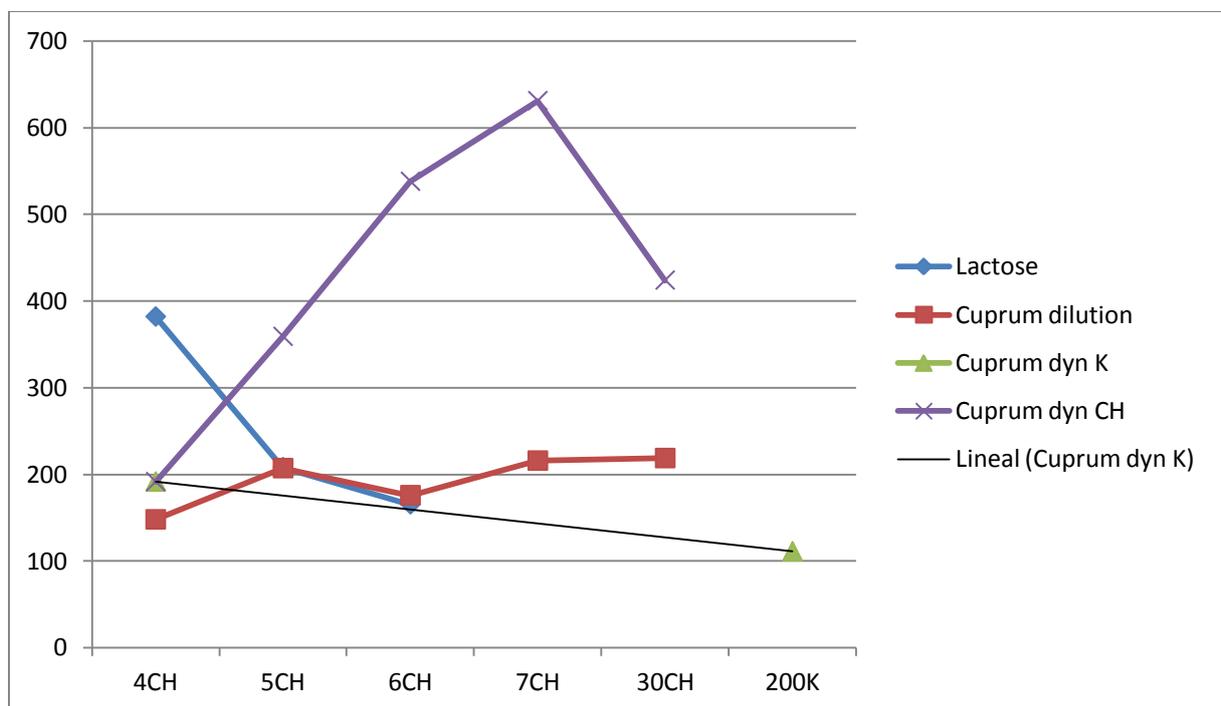
**Table 5. Presence of particles above 20nm in successive dynamisation (Particules/frame). Blue are particles in simple diluted samples, red are CH potencies, green are particles in K potencies, purple are particles in potentized lactose. "... " are extrapolated values.**



**Table 6. Mean particles sizes in nanometers.**



**Table 7. Particules sizes distribution (D90) in nanometers and successives dynamizations.**



### Taille des Nanoparticules

La taille des particules en présence du cuivre au départ augmente à chaque dynamisation. La dispersion des tailles de particules augmente avec la déconcentration de ces particules. Il y a donc une différence qualitative nette de ces nanoparticules entre les dynamisations de cuivre et les

contrôles. Mais il reste à connaître la nature de ces particules par SEM/EDX après concentration par lyophilisation.

### Ultra High Performance Liquid Chromatography coupled with UltraViolet (HPLC-UV).

Ces analyses sont en cours à L'Université Catholique de Louvain sur la série de dynamisation D (X) de Gelsemium sempervirens et son contrôle, je pourrai vous présenter ces résultats à votre congrès.

### Scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM/EDX).

Pour visualiser ces particules nous les avons concentrées par lyophilisation. Le principe de la lyophilisation est simple : la lyophilisation consiste à ôter l'eau d'un produit liquide, pâteux ou solide, à l'aide de la surgélation puis une évaporation sous vide de la glace sans la faire fondre. Le principe de base est que lorsqu'on réchauffe de l'eau à l'état solide (glace) à très basse pression, l'eau se sublime, c'est-à-dire qu'elle passe directement de l'état solide à l'état gazeux. La vapeur d'eau (ou de tout autre solvant) quitte le produit et on la capture par congélation à l'aide d'un condenseur, ou piège froid. Cette technique permet de conserver à la fois le volume, l'aspect et les propriétés du produit traité. Elle peut avoir lieu naturellement (séchage en montagne), ou, plus rapidement, dans un lyophilisateur.

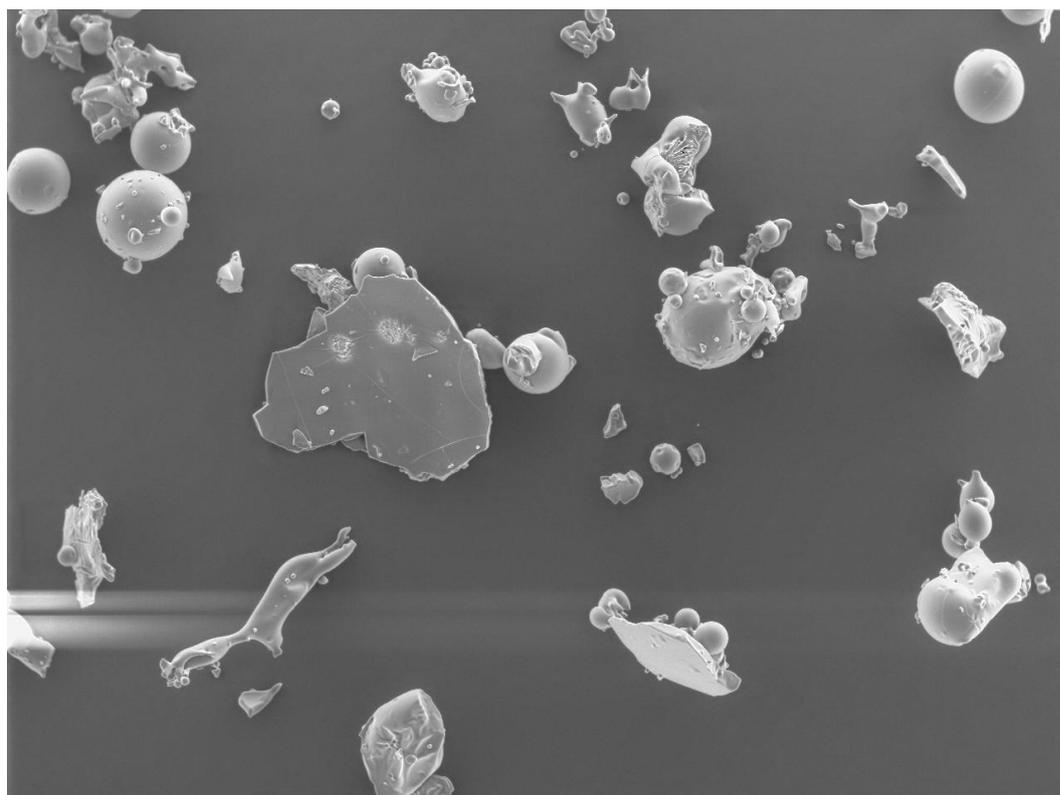
Si on considère la concentration **théorique** des particules que nous devrions obtenir et les quantités **réelles** de matière sèche obtenue de nouvelles questions se posent.

	Cu /g	lactose/g	Incertitude/g	Dry material/g
Cu 1 CH	0.01	0.99	0	
Cu 2 CH	0.0001	0.9999	$3 \times 10^{-9}$	
Cu 3 CH	0.000001	0.999999	$3 \times 10^{-9}$	
Cu 4CH aqua	$\pm 10^{-8}$	$\pm 0,01$	$3 \times 10^{-9}$	10mg (1/100)
Cu 5CH aqua	$10^{-10}$	$10^{-4}$	$3 \times 10^{-9}$	
Cu 6CH aqua	$10^{-12}$	$10^{-6}$	$3 \times 10^{-9}$	
Cu 7CH aqua	$10^{-14}$	$10^{-8}$	$3 \times 10^{-9}$	
Cu 8CH aqua	$10^{-16}$	$10^{-10}$	$3 \times 10^{-9}$	
Cu 9CH aqua	$10^{-18}$	$10^{-12}$	$3 \times 10^{-9}$	
Cu 30CH aqua	$10^{-60}$	$10^{-54}$	$3 \times 10^{-9}$	0,001mg = 1µg
Cu 200K aqua	$10^{-400}$	$10^{-396}$	$3 \times 10^{-9}$	0,0025mg = 2,5µg
Cu Diluted $10^{-60}$ aqua	$10^{-60}$	$10^{-54}$	$3 \times 10^{-9}$	0,003mg = 3µg
Pure aqua 30CH	0	0	0	0,002mg = 2µg

Le processus de dynamisation n'est donc pas une simple dilution, même la dynamisation de l'eau pure génère des particules et même si on ne dynamise pas la solution en passant le produit d'un flacon à l'autre (la dilution se fait quand même étape par étape) il y a aussi des particules résiduelles en quantité anormalement élevée (silicate du verre ?).

Il est donc essentiel maintenant d'identifier ces particules ce qui est possible par SEM/EDX. Toutes ces mesures vous seront présentées à votre congrès mais pour le moment nous n'avons que celle de la dynamisation 4CH qui est formée principalement de sucre, de trace de silice, de cuivre et de soufre.

Agrandissement x50 (le processus de lyophilisation provoque une agglomération des particules)



Weight %

	C-K	O-K	Si-K	S-K
<b>koper 4CH(2)_pt1</b>	22.80	76.98	0.09	0.13

Weight % Error (+/- 1 Sigma)

	C-K	O-K	Si-K	S-K
<b>koper 4CH(2)_pt1</b>	±0.16	±0.42	±0.02	±0.02

Atom %

	C-K	O-K	Si-K	S-K
<b>koper 4CH(2)_pt1</b>	28.26	71.63	0.05	0.06

Formula

	C-K	O-K	Si-K	S-K
<b>koper 4CH(2)_pt1</b>	C	O	Si	S

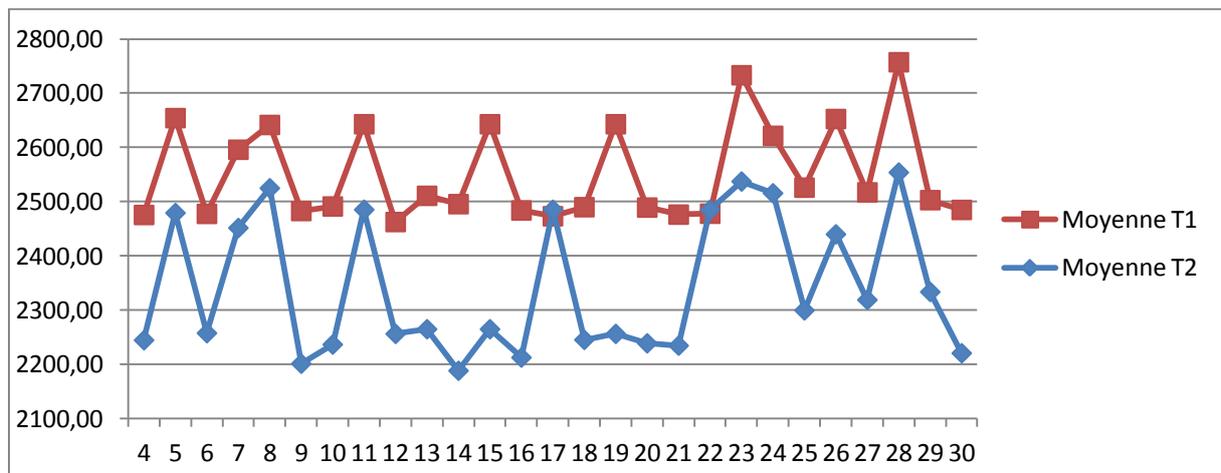
Compound %

	C	O	Si	S
<b>koper 4CH(2)_pt1</b>	22.80	76.98	0.09	0.13

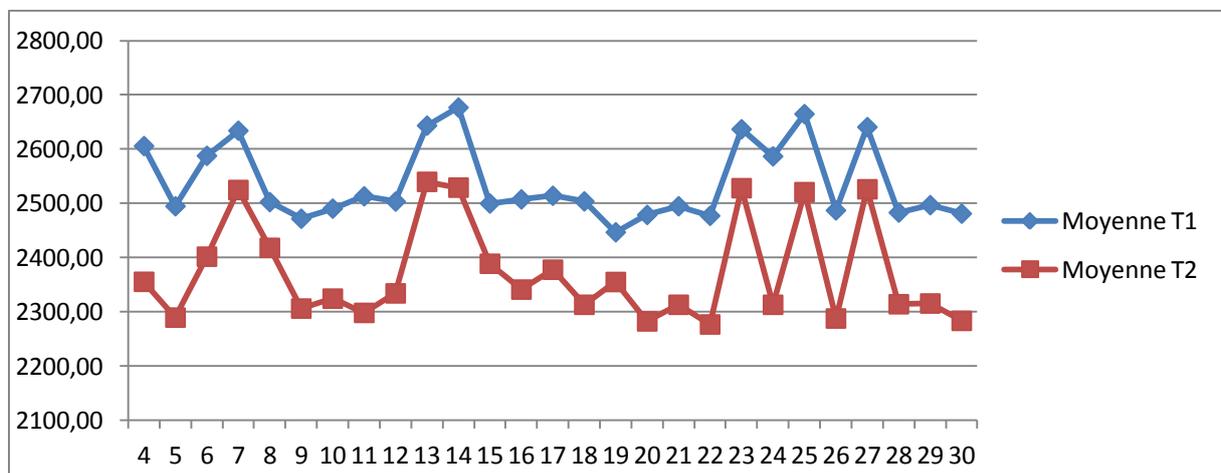
## Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Ces mesures ont été réalisées à l'Université de Mons qui est la seule Université en Belgique qui possède la technologie permettant de faire les mesures des temps de relaxation des molécules d'eau après stimulation par les protons émis par RMN. Pour le cuivre et ses contrôles elles sont terminées, pour le Gelsemium et ses contrôles elles sont en cours pour le moment. D'ores et déjà on peut dire que ces résultats ne sont pas dus au hasard et qu'ils sont donc significatifs. Pour le congrès j'espère pouvoir vous présenter les résultats comparatifs entre cuivre/gelsemium et leurs divers contrôles. Ci-dessus un aperçu des premiers résultats :

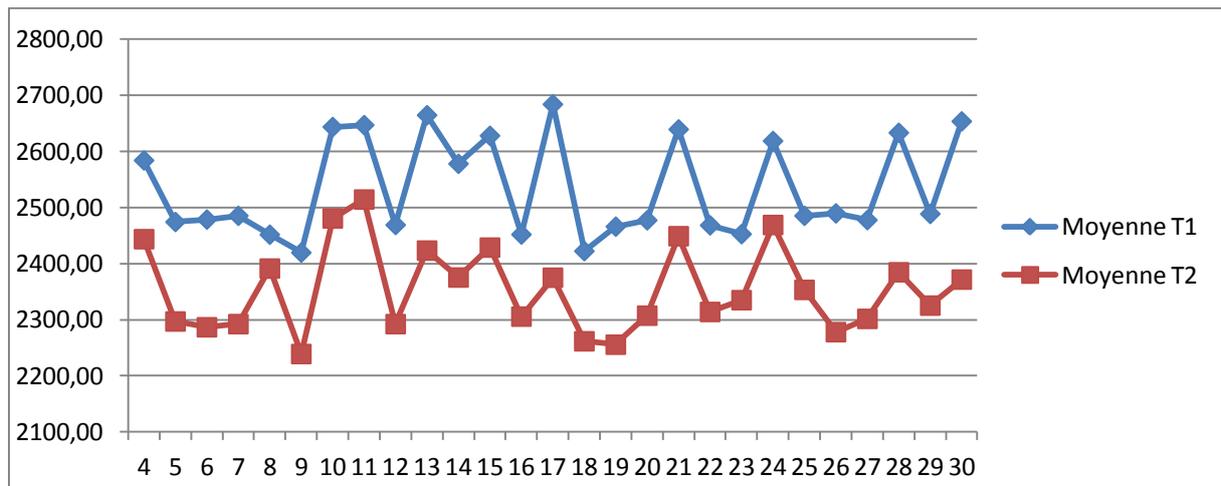
### Contrôle AQUA PURA :



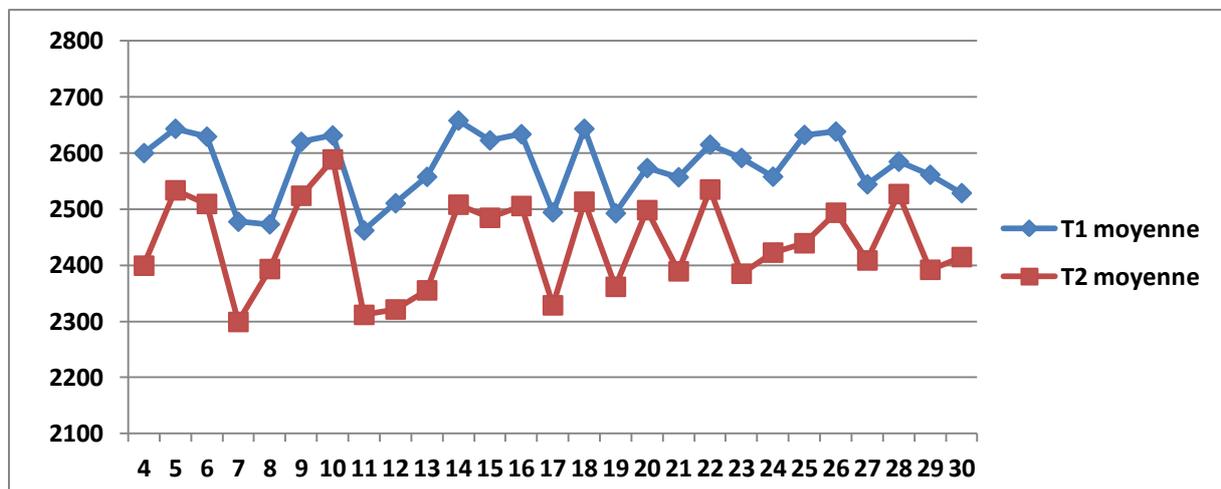
### Contrôle Lactose 4CH (dilué/dynamisé) :



### Contrôle Cuprum metallicum simplement dilué, non trituré, non dynamisé $4=10^{-8}$ , $5=10^{-10}$ , etc. :



### Verum Cuprum metallicum trituré, dynamisé de 4 à 30CH. :



### Analyse Electro-Photonique (AEP)

Nous réaliserons toutes les mesures (plus de 500) entre le 10 avril et le 15 avril 2016 prochain à Gaillac en France. Nous avons réservé le laboratoire pour toute la semaine et ces mesures se feront à l'aveugle (tubes numérotés de manière aléatoire) sous la supervision de Prof. Marc Henry de l'Université de Strasbourg. Au moment de la mise sous presse de ce document je n'ai bien entendu pas encore de résultats mais nous vous les présenterons à votre congrès en mai prochain.

### Conclusions

Le projet DYNHOM arrive doucement en fin de cette première phase de mesures sur un métal et une plante de référence. On pourrait se demander pourquoi ces mesures n'ont pas été réalisées de manière aussi complète et systématique auparavant car il est essentiel de comprendre et de connaître les médicaments que nous utilisons quotidiennement. La réponse est simple, les technologies nécessaires n'étaient pas encore disponibles afin d'envisager ces questions de manière globale et méthodique.

DYNHOM nous démontre clairement que les médicaments homéopathiques ne sont pas « immatériels » mais que cette matérialité est insuffisante pour expliquer un effet thérapeutique. Cette matérialité n'est pas non plus totalement spécifique de chaque remède, une partie de la matière est générée par le processus même de fabrication de nos remèdes (dilution par étapes successives). Cependant cette matérialité influence bien le comportement du solvant qui l'entoure mais nous devons attendre fin avril pour en savoir plus sur la spécificité de cette information dans nos médicaments sous la forme liquide ou après imprégnation sur des granulés.

## Remerciements

Nous tenons à remercier PHARAHOM qui a réalisé et financé les préparations de nos remèdes et de leurs contrôles ; Unio Homeopathica Belgica qui a organisé un colloque permettant le financement des mesures ; la société SYSMEX qui a mis leurs technologies à notre disposition et les Universités de Mons, Louvain et Strasbourg qui ont participé activement à ce projet de recherche dans le cadre de leur compétences.

## References

1. Chikramane PS, Kalia D, Suresh AK, Kane SG, Bellare JR (2012). Why extreme dilutions reach non-zero asymptotes: a nanoparticulate hypothesis based on froth flotation. *Langmuir* 28:15864-15875.
2. Chikramane PS, Suresh AK, Bellare JR, Kane SG (2010). Extreme homeopathic dilutions retain starting materials: A nanoparticulate perspective. *Homeopathy* 99:231-242.
3. Upadhyay RP, Nayak C (2011). Homeopathy emerging as nanomedicine. *International Journal of High Dilution Research* 10:299-310.
4. Bell IR, Muralidharan S, Schwartz GE (2015). Nanoparticle Characterization of Traditional Homeopathically-Manufactured Silver (Argentum Metallicum) Medicines and Placebo Controls. *J Nanomed Nanotechnol* 6:311 doi:10.4172/2157-7439.1000311
5. Ives JA, Moffett JR, Arun P, Lam D, Todorov TI, et al. (2010). Enzyme stabilization by glass-derived silicates in glass-exposed aqueous solutions. *Homeopathy* 99:15-24.
6. Cartwright S (2014). Pyridinium-N-phenolates as molecular probes of serially diluted and agitated solutions: preliminary results. *Homeopathy* 103:65.
7. Mathie RT, Van Wassenhoven M, et al. (2015). Meta-analysis of randomised, placebo-controlled, trials of individualised homeopathic treatment. *European Journal of Integrative Medicine* 7:16 DOI: 10.1016/j.eujim2015.09.042
8. Mathie RT, Van Wassenhoven M, et al. (2012). Method for appraising model validity of randomised controlled trials of homeopathic treatment: multi-rater concordance study. *BMC Medical Research Methodology* 12:49.
9. Editorial (2005). The end of homeopathy. *Lancet* 366:690.
10. Rutten L, Mathie RT, Fisher P, Goossens M, Van Wassenhoven M. (2013). Plausibility and Evidence: the case of Homeopathy. *Medicine, Health Care and Philosophy* 16:3/525-532.
11. Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E, Tomizaki T, Yamaguchi H, Shinzawa-Itoh K, Nakashima R, Yaono R, Yoshikawa S (August 1995). "Structures of metal sites of oxidized bovine heart cytochrome c oxidase at 2.8 Å". *Science* 269 (5227): 1069-74
12. European Pharmacopoeia (2014) 8.2 7/2014
13. Hodiament. (1970) Homéopathie et Physiologie. Ed Similia ISBN 2-7008-0176-8.
14. Hahnemann S(1828). Chronic Diseases. Schmidt & Kunzli Ed. Maisonneuve 1969.

15. Allen T (1879). *Encyclopedia of Pure Materia Medica*. New York, USA. Boericke & Tafel, Philadelphia, USA.
16. Bradford T (2000). *Index of Homeopathic Provings*, New Delhi, India, B Jain Publishers.
17. Duke J, Hughes R (1891). *Cyclopaedia of Drug Pathogenesy*, London, UK, Gould; New Delhi, India, B Jain Publishers.
18. Allen HC (2000). *Allens Keynotes*. B Jain Publishers, New Delhi, India.
19. Dorfman P, Guillemain J, Nevy P, Tetau M (1987). Double-Blind Drug pathogenesy of Cuprum Metallicum 30CH. *Cahiers de Biothérapie* 93:47-56.
20. Mahata CR (2013). Dielectric dispersion studies of some potentised homeopathic medicines reveal structured vehicle. *Homeopathy*, Vol 102(4):262-267.
21. Betello CF (2002). Antioxidante effect in vitro of the homeopathic medicine Arsenicum album, Cuprum metallicum, Manganum and Zincum metallicum. Thesis Faculdade de Ciências da Saude de São Paulo, Brazil.
22. Smits T (2013). *Inspiring Homeopathy : Treatment of Universal Layers*. ISBN 9789076189000.
23. Van Wassenhoven M (2008). First line medicine – Clinical Verification – Verification of homeopathic symptoms. Cuprum metallicum. ISBN 978-2-87491-003-6
24. Boericke W, Boericke OE (1927). *Homeopathic Materia Medica*. ISBN 0766183882
25. Santini R, Tessier M, Bellon P (1991). First experimental arguments in favour of the effect of very weak doses of copper on digestive motricity in mice and rabbits. In: Taylor&Francis. Ultra low doses 3-10.
26. Hariveau E, Nolen P, Holtzscherer A (1991). A study of the effectiveness of ultra low doses of copper in the treatment of hemodialysis-related muscle cramps. RCT. In: Doutremepuich C (ed) *Ultra Low Doses*, Taylor&Francis, London, UK 145-149
27. Linde K, Clausius N, Ramirez G, Melchart D, Eitel F, Hedges LV, Jonas WB (1997). Are the clinical effects of homeopathy placebo effects? A meta-analysis of placebo-controlled trials. *Lancet* 350:834-843.