

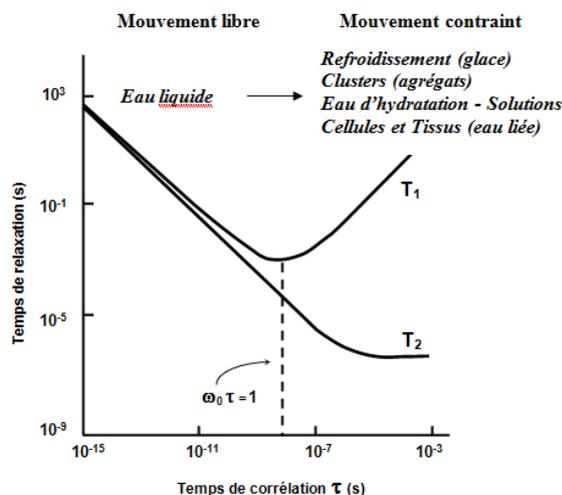
Water proton NMR relaxation revisited: Ultrahighly diluted aqueous solutions beyond Avogadro's limit prepared by iterative centesimal dilution under shaking cannot be considered as pure solvent.

Jean-Louis Demangeat

Article paru dans *Journal of Molecular Liquids* 360 (2022) 119500

I. PREAMBULE (synthèse de l'introduction et de la partie théorique de l'article)

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du proton permet d'étudier l'organisation et la dynamique de l'eau par l'étude des temps de relaxation T1 et T2 qui sont directement reliés aux mouvements moléculaires de rotation τ_r et de translation τ_d . Le temps de corrélation " τ " représente le temps moyen mis par une molécule pour changer d'orientation ou se déplacer d'une distance moléculaire. Les équations sont relativement complexes (cf l'article original) mais on peut pour simplifier négliger la contribution de la relaxation translationnelle et ne considérer que le temps de corrélation τ_r , qui est relié au rayon "a" de la molécule assimilée à une sphère par $\tau_r = 4\pi\eta a^3/3kT$. Ci-dessous la variation théorique de T1 et T2 en fonction du temps de corrélation (fig non incluse dans l'article mais dans articles antérieurs) :



Pour des temps de corrélation extrêmement courts (cas de l'eau pure : $\tau = 10^{-11} - 10^{-12}$ s), T1 et T2 sont égaux, mais pour des temps de corrélation très longs T1 et T2 divergent, T1 augmente et T2 diminue. Ceci est observé dans la glace, dans les milieux très visqueux, dans les clathrates, dans la couche d'hydratation des macromolécules et dans les tissus. Toute augmentation concomitante de T1 et du rapport T1/T2 traduit donc un état de l'eau plus structuré avec mouvement restreint des molécules.

Dans les dilutions homéopathiques, il était attendu que T1 soit égal à T2. Or nous fûmes les premiers dès 1992 à montrer une augmentation de T1 et une diminution de T2 dans des dilutions de silice-lactose [1] puis à confirmer de tels résultats inattendus avec l'histamine, le manganèse-lactose, le silice-lactose, en variant le milieu (eau, NaCl 0.15M, LiCl 0.15M) et la nature du contenant (verre ou plastique), en chauffant puis refroidissant la dilution, et en utilisant une autre technique (NMRDispersion à l'Université de Mons-Hainaut) [2-6]. Nous démontrions ainsi dès 2004 [3] que des dilutions homéopathiques ultramoléculaires (> 12CH) étaient différentes du solvant traité dans des conditions identiques, et en 2008 et 2009 [4,5] qu'il existait des superstructures nanométriques supérieures à 4 nm dans les ultra-hautes dilutions,

dont ultramoléculaires. Ces déductions étaient issues des temps de corrélation trouvés supérieurs à 10^{-8} s (d'après la formule $\tau_r = 4\pi\eta a^3/3kT$) et correspondant à un mouvement moléculaire de l'eau réduit d'un facteur d'environ 1000 dans ces nanostructures (NSs).

Trois autres résultats majeurs étaient issus de ces précédents articles. Les NSs :

- augmentent de taille avec la dilution, même au-delà de 12CH
- disparaissent totalement après chauffage
- n'existent pas à basse dilution (< 3CH)
- catalysent le relargage de la silice dans les récipients en verre
- existent également lors de préparation dans le plastique

Le présent article était motivé par la publication de plusieurs articles de relaxation RMN intercurrents [7,8] et d'autres très récents [9-13] ayant pour la plupart repris ma méthodologie. En outre, des méta-analyses récentes ont affirmé la relaxation RMN comme technique potentielle majeure pour l'étude des hautes dilutions [14,15]. *(Le moment était devenu propice pour "re-visiter" mes travaux à la lumière de ceux de plusieurs équipes indépendantes. Pour ce faire, j'ai ré-examiné leurs données plus en détail qu'ils ne l'avaient fait et ainsi pu démontrer que toutes confirmaient mes résultats, à savoir augmentation de T1 et/ou du rapport T1/T2, permettant d'affirmer sans ambiguïté que les dilutions ultramoléculaires étaient différentes du solvant).*

II. RESULTATS

Partie A: Revue détaillée de mes propres études [1-6]. Je n'y reviendrai pas ici.

Partie B : Travaux des autres équipes corroborant mes résultats

1. Etude de Milgrom [7]

Cet auteur a repris les travaux de relaxation RMN à 20 MHz de Lasne et Conte publiés dans les années 1990 sur des dilutions d'acide nitrique en verre ordinaire. Utilisant le borosilicate au lieu du verre, il n'a pas retrouvé les variations importantes et chaotiques de T2 précédemment décrites. A partir des données qu'il fournit, une analyse de régression (ce qu'il n'a pas recherché) montre une augmentation significative du rapport T1/T2 qui persiste dans le domaine ultramoléculaire ($\geq 13\text{CH}$; $p=0.031$).

2. Etudes de Tiezzi et al [8,9]

Le groupe de Tiezzi a montré par relaxation RMN à 200 MHz en 2003 une divergence de T1 et T2 avec augmentation de T1 et diminution de T2 dans des dilutions ultramoléculaires (12CH) mais dont la nature du soluté n'était pas précisée. Ils ont attribué ce résultat à une structure « dissipative » supramoléculaire de l'eau, sans en préciser la taille mais dont mes calculs selon leurs données mènent à quelques dizaines de nm. Ils ont republié les mêmes résultats en 2010, sans

davantage d'informations mais avec une interprétation différente, en termes de domaines d'eau cohérente ou d'EZ (Exclusion Zone) théorie de Pollack.

3. *Etudes de Baumgartner et al [10]*

Ces auteurs ont mesuré T1 et T2 selon mon protocole [1,3] dans des dilutions de silice (10-30CH), de sulfure (13-30DH) et de sulfate de cuivre (11-30CH) à 600 et 500 MHz. Ils ont trouvé une augmentation de T1 non différente des contrôles dans un premier temps mais qui le devenait lors de re-mesures après 1 an. Les auteurs n'ont pas analysé le rapport T1/T2 lors des mesures initiales mais l'analyse de régression que j'en ai faite à partir des données fournies dans le supplément électronique de leur article montre une augmentation très significative de T1/T2 ($p < 0.001$) dans les dilutions ultramoléculaires de sulfate de cuivre 11-30CH résultant d'une légère augmentation de T1 et d'une diminution très significative de T2.

4. *Etudes de Wassenhoven [11,12]*

Ces études menées par relaxation RMN à 20 MHz ont comparé des dilutions dynamisées de Cuprum, Lactose, et Gelsemium de 4 à 30CH à des dilutions simples. Dans une première étude [11], ils montraient des fluctuations de T1 et T2 en fonction de la dilution dont une analyse statistique discriminante concluait ni à un effet du hasard ni à des erreurs expérimentales. La RMN pouvait ainsi différencier les substances entre elles et avec leurs contrôles avec une très haute probabilité, notamment : Cuprum (dyn) et Gelsemium (dyn) vs contrôles and vs échantillons dilués, Cuprum (dyn) vs Gelsemium (dyn), Cuprum (dyn) vs Lactose (dyn). En analysant le rapport T1/T2 en fonction de la dilution (ce qu'ils n'ont pas fait), il apparaît une augmentation très significative de ce rapport dans les dilutions dynamisées de Gelsemium, sur toute la gamme de dilution jusqu'à 30CH, résultant d'une augmentation de T1 ($p = 0.002$) et d'une diminution non significative de T2. Les auteurs ont conduit une seconde étude de vérification [12] qui confirmait la discrimination significative entre les substances et les contrôles. Ils concluaient ainsi leur étude : "Homeopathic solutions could not be considered as pure water and a kind of memory effect could operate during the dilution process, potentiated by dynamization".

5. *Etude d'Esposito et al [13]*

Cette étude avait pour but clairement déclaré de répliquer mon travail de 2010 [5], utilisant les mêmes substances (silice-lactose entre 4 et 24CH dans LiCl 0.15 M) et le même appareillage (Minispec à 20 MHz), travail qui avait montré une divergence de T1 et T2 (corrélation négative) sur les échantillons natifs qui s'inversait après chauffage, retrouvant le comportement du solvant (corrélation positive). Ce résultat était en faveur de nanostructures dans les dilutions natives qui disparaissaient après chauffage. Ils ont pu reproduire ce résultat important, avec même des niveaux de corrélation supérieurs à ceux que j'avais trouvés. Malheureusement leur étude pêchait par le fait qu'ils avaient utilisé des dilutions de lactose comme contrôles et

non le solvant LiCl dilué/dynamisé, ce qui rendait leur conclusion différente de la mienne et de mon sens erronée (discuté dans l'article). Néanmoins cette étude apparaît comme la confirmation la plus directe de mes résultats. En outre, les auteurs admettaient mon hypothèse des nanobulles (NBs) comme explication probable de ces observations.

III. DISCUSSION

1) *Evidence RMN de nanostructures (NSs)*

Toutes les études de relaxation RMN décrites ci-dessus démontrent une augmentation des temps de corrélation de l'eau au-delà de 10^{-8} s dans les hautes dilutions homéopathiques, et notamment au-delà de la limite d'Avogadro, ce qui correspond à des mouvements de l'eau réduits d'un facteur 1000 et à des NSs de quelques dizaines de nm. Cette conclusion ne peut être désormais mise en doute. L'article analyse en détail et rejette toutes les causes possibles d'artefacts expérimentaux.

2) *Rappels théoriques sur la structure de l'eau.*

Les différentes hypothèses sur la structure de l'eau sont rappelées, des modèles initiaux de clusters d'icebergs (Frank et Evans) ou de percolation (Stanley et Teixeira) aux modèles les plus récents résultant de théories quantiques (domaines de cohérence de 100 nm et EZ (Exclusion Zone) water de Pollack). Mais quels que soient les modèles, il n'existe à ce jour aucune preuve spectroscopique par diffusion RX ou des neutrons en faveur de clusters qui excéderaient 1 nm. En revanche les seuls véritables clusters stables caractérisés sont les hydrates de gaz qui sont des clathrates de dizaines à centaines de molécules d'eau formant des cages de structure glace autour de la molécule de gaz. De telles structures d'eau "icelike" ont également été démontrées autour des nanobulles (NBs), ce qui constitue le "primum movens" de la construction de NSs dans mon hypothèse.

3) *Nature des NSs*

L'article réfute par des arguments théoriques et expérimentaux le modèle quantique des structures dissipatives, des domaines de cohérence et de la théorie de Pollack, proposé par Tiezzi *et al.* Il développe au contraire une hypothèse particulière (cad non quantique) de NSs formées par nucléation du soluté avec les NBs issues de la cavitation lors de la dynamisation, ce noyau structural initial pouvant être élargi et/ou stabilisé par l'adjonction d'éléments présents dans le milieu (ions en cas de solvant salin), arrachés du verre (silice, Na, K, Ca, Al...), et surtout provenant de l'atmosphère (notamment bicarbonates) par dissolution du CO₂. A chaque dilution, ce noyau va s'entourer par nucléation d'une nouvelle couche de NBs avec tout le cortège d'éléments divers sus-cités. Ces NSs grossissent à chaque dilution, et le phénomène se poursuit dans le domaine ultramoléculaire sans discontinuité au

passage d'Avogadro. A basse dilution (< 3CH), le rapport gaz/soluté est insuffisant pour obtenir la nucléation, ce qui est corroboré par d'autres auteurs ne trouvant pas de superstructures en-dessous d'un seuil de dilution (Montagnier et al : 10^{-5} - 10^{-8}) et Duval et al (10^{-5} - 10^{-6}). A partir d'une certaine dilution, donc d'une certaine taille, ces NSs sont suffisamment stables pour persister alors que le soluté initial n'est plus présent.

4) Autres arguments en faveur de NSs ou de NPs

Depuis 2010 (article de Chikramane *et al*) de nombreuses publications ont mis en évidence par diverses techniques spectroscopiques et microscopie électronique la présence de nanoparticules (NPs) dans les dilutions homéopathiques jusqu'à 30CH, 200CH voire au-delà. Mais ces travaux sont pour la plupart hautement critiquables car réalisés sur des dilutions commerciales et sans échantillons témoins. En conséquence seules sont analysées dans l'article les recherches effectuées en laboratoire et avec échantillons témoins. Il ressort que les travaux de Wassenhoven *et al* [16,17] sont les plus exhaustifs et rigoureux. Des NPs sont identifiées et caractérisées dans des dilutions de Cuprum et Gelsemium jusqu'à 30CH, présentes également en milieu plastique, absentes dans les contrôles d'eau pure, augmentant de taille avec la dilution, et différenciables selon la nature du soluté initial.

IV. CONCLUSION

Il est montré que les hautes dilutions homéopathiques ultramoléculaires, au-delà de 12CH, ne sont pas équivalentes à leur solvant, préparé dans des conditions identiques. Une trace physique persiste identifiée par une augmentation du temps de corrélation RMN de l'eau qui s'accroît même avec la hauteur de la dilution. Le phénomène est interprété en termes de nanostructures de quelques dizaines de nm impliquant des nanobulles et des éléments divers provenant du solvant, du contenant par relargage de silice et d'ions, et de l'atmosphère. Mais l'article précise que cette évidence de signaux physiques n'implique pas une activité biologique.

[1] J.L. Demangeat, C. Demangeat, P. Gries, B. Poitevin, A. Constantinesco, Modifications des temps de relaxation RMN à 4 MHz des protons du solvant dans les très hautes dilutions salines de silice-lactose [in French], J. Med. Nucl. Biophys. 16 (1992) 135-145.

[2] J.L. Demangeat, P. Gries, B. Poitevin, Modification of 4 MHz water proton relaxation times in very high diluted aqueous solutions, in: M. Bastide(Ed), Signals and Images, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1997, pp. 95-110.

[3] J.L. Demangeat, P. Gries, B. Poitevin, J.J. Driesbeke, T. Zahaf, F. Maton, C. Piérart, R.N. Muller, Low-field NMR water proton longitudinal relaxation in ultrahighly diluted aqueous solutions of silica-lactose prepared in glass material for pharmaceutical use, Appl. Magn. Reson. 26 (2004) 465-481.

[4] J.L. Demangeat, NMR water proton relaxation in unheated and heated ultrahigh dilutions of histamine: Evidence for an air-dependent supramolecular organization of water, J. Mol. Liq. 144 (2009) 32-39.

- [5] J.L. Demangeat, NMR relaxation evidence for solute-induced nanosized superstructures in ultramolecular aqueous dilutions of silica-lactose, *J. Mol. Liq.* 155 (2010) 71-79.
- [6] J.L. Demangeat, Nanosized solvent superstructures in ultramolecular aqueous dilutions: Twenty years' research using water proton relaxation, *Homeopathy* 102 (2013) 87-105.
- [7] L.R. Milgrom, On the investigation of homeopathic potencies using low resolution NMR T2 relaxation times: an experimental and critical survey of the work of Roland Conte et al, *Br. Hom. J.* 90 (2001) 5-13.
- [8] E. Tiezzi, NMR evidence of a supramolecular structure of water, *Annali di Chimica* 93 (2003) 471-476.
- [9] E. Tiezzi, M. Catalucci, N. Marchettini, The supramolecular structure of water, *Int. J. Des. Nat. Ecodyn.* 5 (2010) 10-20.
- [10] S. Baumgartner, M. Wolf, P. Skrabal, F. Bangerber, P. Heusser, A. Thurneysen, U. Wolf, High-field 1H T1 and T2 NMR relaxation times measurements of H2O in homeopathic preparations of quartz, sulphur, and copper sulfate, *Naturwissenschaften* 96 (2009) 1079-1089.
- [11] M. Van Wassenhoven, M. Goyens, M. Henry, E. Capieaux, P. Devos, Nuclear magnetic resonance characterization of traditional homeopathically-manufactured copper (*Cuprum metallicum*) and plant (*Gelsemium sempervirens*) medicines and controls, *Homeopathy* 106 (2017) 223-239.
- [12] M. Van Wassenhoven, M. Goyens, M. Henry, J. Cumps, P. Devos, Verification of nuclear magnetic resonance of traditional homeopathically manufactured metal (*Cuprum metallicum*) and plant (*Gelsemium sempervirens*) medicines and controls, *Homeopathy* 110 (2021) 42-51.
- [13] F. Esposito, U. Wolf, S. Baumgartner, NMR relaxation time investigation of highly diluted aqueous solutions of silica-lactose, *J. Mol. Liq.* 337 (2021) 115975.
- [14] A. Tournier, S.D. Klein, S. Würtenberger, U. Wolf, S. Baumgartner, Physicochemical investigations of homeopathic preparations: A systematic review and bibliometric analysis – Part 2, *J. Altern. Complement. Med.* 25 (2019) 890-901.
- [15] A. Tournier, S. Würtenberger, S.D. Klein, S. Baumgartner, Physicochemical investigations of homeopathic preparations: A systematic review and bibliometric analysis – Part 3, *J. Altern. Complement. Med.* 27 (2021) 45-47.
- [16] M. Van Wassenhoven, M. Goyens, E. Capieaux, P. Devos, P. Dorfman, Nanoparticle characterization of traditional homeopathically manufactured *Cuprum metallicum* and *Gelsemium sempervirens* medicines and controls, *Homeopathy* 107 (2018) 244-263.
- [17] M. Van Wassenhoven, M. Goyens, P. Dorfman, P. Devos, Particle characterization of traditional homeopathically manufactured medicine *Cuprum metallicum* and controls, *Int. J. High Dilution Res.* 20 (2021) 11-28.