

ORJİNAL MAKALE

Yüksek Potensli Homeopatik Dilüsyonlarda Kaynak Maddenin Korunumu: Nanopartikül Perspektifinden Bir İnceleme

*Prashant Satish Chikramane¹, Akkihebbal K. Suresh^{1,2}, Jayesh Ramesh Bellare^{1,2}, ve Shantaram Govind Kane¹, ***

¹ Kimya Mühendisliği Bölümü, Hindistan Teknoloji Enstitüsü (IIT) Bombay, Adi Shankaracharya Marg, Powai, Mumbai 400 076, Maharashtra, Hindistan

² Biyobilimler ve Biyomühendislik Bölümü, Hindistan Teknoloji Enstitüsü (IIT) Bombay, Adi Shankaracharya Marg, Powai, Mumbai 400 076, Maharashtra, Hindistan

Homeopati, 30C ve 200C gibi yüksek potensli preparatların sırasıyla 10⁶⁰ ve 10⁴⁰⁰ düzeylerinde son derece yüksek dilüsyon faktörleri içermesi nedeniyle tartışmalı bir alan olmayı sürdürmektedir. Bu dilüsyon düzeyleri, Avogadro sayısını birçok merteye aşmakta olup teorik olarak kaynak maddeden ölçülebilir herhangi bir kalıntının bulunmaması gerektiğini göstermektedir. Bugüne kadar, kaynak maddenin özelliklerinin bu yüksek potenslerde nasıl korunduğunu öngören herhangi bir hipotez ortaya konulamamış; ayrıca bu preparatlar içerisinde fiziksel bir oluşumun varlığı da gösterilememiştir. Bu çalışmada, güvenilir üreticilerden temin edilen metal kökenli homeopatik preparatların ticari örnekleri kullanılarak, ilk kez Transmisyon Elektron Mikroskopisi (TEM), elektron difraksiyonu ve İndüktif Eşleşmiş Plazma–Atomik Emisyon Spektroskopisi (ICP-AES) ile gerçekleştirilen kimyasal analizler aracılığıyla, bu aşırı dilüsyonlarda fiziksel oluşumların varlığı ortaya konmuştur. Elde edilen bulgular, söz konusu oluşumların kaynak metallerle ait nanopartiküller ve bunların agregatları şeklinde bulunduğunu göstermektedir.

Homeopathy (2010) 99, 231–242

Anahtar Kelimeler : Homeopati; Nanopartiküller; Nanokristalin Materyaller; Transmisyon Elektron Mikroskopisi

Giriş

Homeopati, bir tedavi yöntemi olarak, 18. yüzyılın sonlarında Alman hekim Samuel Hahnemann tarafından geliştirilmiştir. Hahnemann, yürüttüğü deneysel çalışmalar sırasında çok çeşitli doğal kaynaklardan ilaçlar hazırlamıştır. Bu çalışmalar sonucunda, söz konusu maddelerin kademeli olarak gerçekleştirilen ardışık dilüsyonlarının ve her bir dilüsyon basamağında uygulanan güçlü çalkalama işleminin (*süksüsyon*) — birlikte potensizasyon olarak adlandırılan süreç — bu çözeltilere belirgin bir etkinlik kazandırdığını gözlemlemiştir.^{1,2}

Etkinliğine ilişkin bilimsel çevreler tarafından ileri sürülen çeşitli tartışmalara ve sıkça yöneltilen eleştirilere rağmen, bu tedavi yaklaşımı zaman içerisinde varlığını korumuş ve günümüzde de birçok ülkede çeşitli kronik durumların tedavisinde kullanılmaya devam etmiştir. Bu amaçla kullanılan homeopatik preparatlar; bitkisel, hayvansal, metalik ve diğer mineral kökenli çok çeşitli kaynak maddelerden hazırlanmaktadır.

Bununla birlikte, alandaki en önemli eksikliklerden biri, kaynak maddenin fiziksel varlığına ilişkin kanıtların yetersiz olmasıdır. Bu konuda rasyonel bir açıklamaya ulaşılmamasını güçleştiren temel neden, homeopatik preparatların son derece yüksek dilüsyonlarda kullanılmasıdır. Bu dilüsyonlar arasında, Avogadro sayısını birçok merteye aşan seyreltme düzeyleri de bulunmaktadır; dolayısıyla teorik olarak kaynak maddeden ölçülebilir herhangi bir kalıntının mevcut olması beklenmemektedir. Klinik uygulamada, sırasıyla 10^{60} ve 10^{400} dilüsyon faktörlerine sahip olan 30C ve 200C potensleri, bir mol içerisindeki $6,023 \times 10^{23}$ molekülü ifade eden Avogadro sayısının çok ötesinde olmalarına rağmen rutin olarak kullanılmaktadır.

Bu preparatların etki mekanizmalarını açıklamak ve gerekçelendirmek amacıyla çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür. Su hafızası teorisi,³⁻⁵ klatrat oluşumu⁶ ve epitaksi⁷ gibi bazı hipotezler büyük ölçüde varsayımsal nitelik taşıırken; çözeltilerin kuantum fiziksel özelliklerine dayanan diğer yaklaşımlar^{8,9} ise ya hipotezlerin doğrulanmasının karmaşıklığı nedeniyle ya da sonuçların yeterli düzeyde tekrarlanabilir olmaması sebebiyle yeterince test edilememiştir. “Silika hipotezi”¹⁰, cam kaplardan çözeltilere geçen maddeler sonucunda oluşan siloksanlar veya silikatlar gibi fiziksel oluşumların varlığını öne süren tek model olarak dikkat çekmektedir. İlaç etkinliğinden sorumlu olabilecek herhangi bir fiziksel varlığı tanımlayabilecek güvenilir ve deneysel olarak test edilebilir hipotezlerin yetersizliği nedeniyle, günümüz bilim insanlarının büyük bir bölümü homeopatinin en iyi ihtimalle plasebo etkisi sağladığı görüşünü sürdürmektedir.

30C ve 200C potenslerinde kullanılan son derece yüksek dilüsyonlara rağmen, bu çalışmadaki yaklaşımımız kaynak maddelerin nanopartikül formunda varlığını araştırmak olmuştur.

İncelenmek üzere metal kökenli homeopatik preparatlar seçilmiş ve seçilen metallerin safsızlık veya kontaminasyon kaynağı olarak ortaya çıkma olasılığının bulunmamasına özellikle dikkat edilmiştir. Çalışmada değerlendirilen altı metal ve bunlara karşılık gelen homeopatik preparatlar şunlardır; Altın (Aurum metallicum veya Aurum met) , Bakır (Cuprum metallicum veya Cuprum met) , Kalay (Stannum metallicum veya Stannum met) , Çinko (Zincum metallicum veya Zincum met) , Gümüş (Argentum metallicum veya Argentum met) Platin (Platinum metallicum veya Platinum met) Çalışmada üç farklı potens düzeyi seçilmiştir: 6C, 30C ve 200C. 6C potensinin dilüsyon faktörü 10^{12} olup Avogadro sayısının altındadır. Buna karşılık, 30C ve 200C potenslerinin dilüsyon faktörleri Avogadro sınırının çok üzerindedir. Bu preparatların %90 (v/v) etanol içerisinde hazırlanmış ticari örnekleri, güvenilir iki üreticiden temin edilmiştir: SBL, Hindistan ve Dr. Willmar Schwabe India (WSI) Private Limited.

Bu çalışmada aşağıdaki fizikokimyasal özellikler incelenmiştir:

- Fiziksel oluşumların nanopartikül formunda bulunup bulunmadığının ve boyutlarının, aydınlık alan (*bright-field*) ve karanlık alan (*dark-field*) görüntüleme teknikleri kullanılarak Transmisyon Elektron Mikroskopisi (TEM) ile belirlenmesi.
- Bu oluşumların kimliklendirilmesinin, Seçilmiş Alan Elektron Difraksiyonu (Selected Area Electron Diffraction; SAED) desenlerinin ilgili kristal yapılara ait literatür standartlarıyla karşılaştırılması yoluyla gerçekleştirilmesi.

c. Homeopatik preparatların 500 kat konsantre edilmesinin (yoğunlaştırılmasının) ardından, kaynak metallere ait düzeylerin İndüktif Eşleşmiş Plazma–Atomik Emisyon Spektroskopisi (ICP-AES) kullanılarak kimyasal analiz yoluyla belirlenmesi.

Materyaller ve Yöntemler

Materyaller

Araştırmada kullanılan homeopatik preparatlar, Hindistan'ın önde gelen homeopatik ilaç üreticilerinden biri olan SBL'nin yetkili distribütörlerinden ve uluslararası bir homeopatik şirketin Hindistan iştiraklerinden biri olan Dr. Willmar Schwabe India Pvt. Ltd. firmasından ticari olarak temin edilmiştir. Numune seçiminde rastgele parti (batch) numaralarına sahip ürünler piyasadan satın alınmış olup, üretici firmalardan özel olarak numune temin edilmesine yönelik herhangi bir girişimde bulunulmamıştır. Preparatlar doğrudan piyasadan satın alındığından, yalnızca bazı durumlarda aynı üretim partisine ait örneklerin temin edilmesi mümkün olmuştur. Ayrıca belirli bir üretim partisine ait ürünleri elde etmeye yönelik özel bir çaba da gösterilmemiştir. ICP-AES analizlerinde kullanılan Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) saflığındaki etanol, Commercial Alcohols Inc. (Kanada) firmasından temin edilmiştir. TEM analizlerinde kullanılan gridler ise Pacific Grid-Tech (ABD) firmasından sağlanmış olup, karbon–formvar kaplı, 200 mesh bakır gridlerden oluşmaktadır.

Yöntemler

TEM/SAED ile Nanopartikül Karakterizasyonu: TEM analizleri, *Tecnai G2 120 kV Cryo-TEM (FEI, Hillsboro, ABD)* cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm örnekler 120 kV hızlandırma voltajında incelenmiştir. Homeopatik preparatların TEM analizleri, orijinal çözeltilerden (ön konsantrasyon işlemi uygulanmaksızın) alınan bir damlanın, temiz bir ortamda karbon–formvar kaplı bakır TEM gridleri üzerine bırakılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Çözelti damlasının tamamen kurumaya izin verildikten sonra ikinci bir damla ilave edilmiştir. Her bir damlanın kuruma süresi, oda sıcaklığında ve hava ortamında yaklaşık 30–60 dakika olarak gerçekleşmiştir. Bu işlem toplam beş kez tekrarlanmıştır. Son uygulamadan sonra örnekler ilave 30–60 dakika süreyle havada kurumaya bırakılmış, ardından gridler yaklaşık 20 dakika boyunca kızılötesi (IR) lamba altında tutulmuştur. Bu işlem, örneklerin tamamen kurummasını sağlamak ve çözücü moleküllerinin grid üzerindeki partiküllere tutunma olasılığını ortadan kaldırmak amacıyla uygulanmıştır.

Partiküllere ait *Seçilmiş Alan Elektron Difraksiyonu (SAED)* desenleri elde edilmiş ve d-aralığı (*d-spacing*) değerleri, kamera uzunluğu kullanılarak hesaplanmıştır. Kamera uzunluğu, standart altın kolloidi kullanılarak günlük olarak kalibre edilmiştir. Ayrıca, SAED desenlerinde yer alan iç kısımdaki iki halkadan seçilen üç farklı nokta kullanılarak karanlık alan (*dark-field*) görüntüleri elde edilmiştir. SAED desenlerinden d-aralığı değerleri ve karanlık alan görüntülerinden kristalit boyutları, ImageJ yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır.

ICP-AES ile Elementel Bileşim Analizi : Kaynak elementlerin ultra-iz düzeylerdeki konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla Ultima 2 ICP-AES cihazı (Jobin Yvon Horiba, Japonya) kullanılmıştır. ICP-AES cihazının çalışma parametreleri aşağıdaki şekilde

ayarlanmıştır ; Plazma gazı (argon) akış hızı: 12 L/dk, Yardımcı gaz akış hızı: 0,2 L/dk , Numune besleme hızı: 2,5 mL/dk , Entegrasyon süresi: 5,0 sn , Püskürtme odası (spray chamber): Siklonik tip. Kullanılan cihazın tespit limiti (limit of detection, LOD) 10 ppb olarak belirlenmiştir. ICP-AES analizleri öncesinde örnekler hazırlanırken, 6C, 30C ve 200C potenslerine ait çözeltiler 500 kat ön konsantrasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla örnekler, Roteva Model #8706R vakumlu döner evaporatör (Equitron, Hindistan) kullanılarak 45°C sıcaklıkta ve 100 rpm dönüş hızında konsantre edilmiştir.

Araştırmada kullanılan homeopatik preparatlar, ticari olarak 100 mL veya 500 mL hacimli şişelerde temin edilmiştir. SBL firmasına ait preparatların büyük çoğunluğu 500 mL'lik şişelerde bulunurken, az sayıda preparat 100 mL'lik şişelerde pazarlanmaktaydı. Dr. Willmar Schwabe India (WSI) Pvt. Ltd. firmasından temin edilen preparatların tamamı ise 100 mL hacimli şişelerden oluşmaktaydı. 500 mL'lik şişelerde satılan preparatlar için, aynı preparatın ve aynı potensin dört farklı şişesindeki çözeltiler bir araya getirilerek konsantrasyon işlemine (yoğunlaştırma işlemine) tabi tutulmuştur. 100 mL'lik şişelerde pazarlanan preparatlar için ise aynı preparat ve potens düzeyine ait yirmi şişenin içeriği birleştirilmiştir.

Konsantrasyon işlemi, döner vakum evaporatör üzerinde bulunan temiz bir 50 mL yuvarlak dipli balon içerisinde gerçekleştirilmiştir. Balon içerisine her seferinde yaklaşık 30–35 mL çözelti alınmış ve çözücü tamamen uzaklaştırılmıştır. Çözücünün tamamen buharlaştırılmasının ardından balon yeniden taze homeopatik çözelti ile doldurulmuş ve toplam 2000 mL hacmindeki çözeltinin tamamı buharlaştırılıncaya kadar işlem tekrarlanmıştır. Satın alınan preparatların bütünlüğünü korumak amacıyla her seferinde yalnızca bir şişe açılmıştır. Ayrıca kontaminasyonu önlemek için çözeltiler hiçbir koşul altında açıkta bekletilmemiştir. *Cuprum metallicum*, *Stannum metallicum* ve *Zincum metallicum* preparatlarından elde edilen kalıntılar, ilgili kaynak metallere ait partiküllerin çözünmesini sağlamak amacıyla derişik nitrik asit ilavesiyle asitlendirilmiştir. Benzer şekilde, *Aurum metallicum*, *Argentum metallicum* ve *Platinum metallicum* preparatlarından elde edilen kalıntılara, kral suyu (*aqua regia*; derişik nitrik asit ve derişik hidroklorik asidin 1:3 oranındaki karışımı) eklenmiştir. Tüm konsantre örneklerde su ve asit oranı 1:1 olarak korunmuştur. Asit ve su miktarları, nihai hacim 4 mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Böylece başlangıç hacmine göre örneklerde 500 katlık bir konsantrasyon faktörü elde edilmiştir. Analiz öncesinde örnekler, kalıntı hâlindeki partiküller maddelerin uzaklaştırılması amacıyla Whatman No. 40 filtre kâğıdından süzölmüştür. SBL firmasına ait örnekler üç tekrarlı (**triplikat**) olarak, WSI firmasına ait örnekler ise iki tekrarlı (**duplikat**) olarak analiz edilmiştir. Negatif kontrol amacıyla, HPLC saflığında etanol ve Milli-Q su kullanılarak %90 (v/v) etanol çözeltileri hazırlanmıştır. Bu etanolik çözeltiler de homeopatik preparatlara uygulanan prosedür ile aynı şekilde konsantre edilmiştir.

Metallerin konsantrasyonlarının belirlenmesinde kullanılan emisyon çizgileri aşağıdaki gibidir: **Altın (Au):** 242,795 nm ,**Bakır (Cu):** 324,754 nm ,**Kalay (Sn):** 283,999 nm ,**Çinko (Zn):** 213,856 nm , **Gümüş (Ag):** 328,068 nm, **Platin (Pt):** 265,945 nm. Örnek analizlerine başlanmadan önce cihazın yanıtı, uygun standart çözeltiler kullanılarak kalibre edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

TEM ile Boyut ve Morfolojinin Belirlenmesi

Zincum metallicum, *Aurum metallicum*, *Stannum metallicum* ve *Cuprum metallicum* preparatlarının 30C ve 200C potensleri TEM ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, fotomikrograflar şeklinde sunulmuştur (Şekil 1a–p). Bu görüntüler, nanopartiküllerin ve bunlara ait agregatların varlığını açıkça ortaya koymaktadır. Aşırı dilüsyonlar nedeniyle, görüntülerde çoğu zaman yalnızca tek bir nanopartikül veya büyük bir agregat gözlenebilmektedir. Bu bölümün devamında “**partikül**” terimi, nanopartikülleri ve bunların agregatlarını birlikte ifade etmek amacıyla kullanılacaktır. İncelenen farklı preparat ve potenslerdeki partiküllerin şekil ve boyut bakımından yüksek derecede **polidisperse** gösterdiği belirlenmiştir. Bu preparatların üretim sürecinin ayrıntılı olarak değerlendirilmesi sonucunda, yüksek polidispersitenin oluşumunda iki temel sürecin belirleyici rol oynadığı düşünülmüştür:

1. Katı Fazdaki Dilüsyon Basamakları

Katı fazda gerçekleştirilen dilüsyon basamakları (6C potense kadar), ham maddelerin laktoz ile **tritürasyonu** (öğütülmesi) işlemine dayanmaktadır. Bu tür bir mekanik parçalama sürecinin, farklı şekil ve boyutlarda partiküllerin oluşmasına yol açması beklenmektedir. Oluşan partiküllerin fiziksel özellikleri; kullanılan ham maddenin türüne, uygulanan kesme kuvvetlerine (*shearing force*) bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

2. Sıvı Dilüsyonlar Sırasındaki Süksüsyon İşlemi

Her potensizasyon basamağında uygulanan **süksüsyon** işleminin de önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Sıvı faza uygulanan süksüsyonların, farklı şekil ve boyutlarda partiküllerin oluşumuna katkıda bulunması beklenmektedir. Bu durumun üç temel faktöre bağlı olduğu öne sürülmektedir: Sıvı içeren kabın elastik bir yüzeye çarpılması sırasında oluşan kesme kuvvetleri, kullanılan ham maddelerin fiziksel özellikleri, kabın çalkalanması veya mekanik darbeye maruz bırakılması sırasında uygulayıcılar arasında ortaya çıkan farklılıklar. Bu faktörlerin her biri, oluşan partiküllerin boyut dağılımını ve morfolojik özelliklerini etkileyebilmektedir.

Yukarıda belirtilen faktörlerin farklı kombinasyonları ile çeşitli üreticiler tarafından uygulanan üretim süreçlerindeki olası küçük farklılıklar, farklı preparatlar ve üreticiler arasında gözlenen polidisperse bulgularını açıklayabilmektedir. Ayrıca, partiküllerin yüzeylerinde belirgin yüzey düzensizlikleri (asperiteler) bulunduğuna ilişkin dikkat çekici bir gözlem daha yapılmıştır. Bu durum, partikül yüzeylerindeki kontrast farklılıkları ve farklı kaynak metallere ait partiküller arasında gözlenen belirgin boyut farklılıkları ile açıkça ortaya konmuştur. Bu doğrultuda, aynı potenslerde incelenen preparatlar arasında *Zincum metallicum* (Şekil 1a–d) ve *Stannum metallicum* (Şekil 1i–l) örneklerinde, *Aurum metallicum* (Şekil 1e–h) ve *Cuprum metallicum* (Şekil 1m–p) örneklerine kıyasla daha büyük agregatların bulunduğu gözlenmiştir. Yukarıda belirtilen gözlemler, üretim süreci sırasında tüm sıvı kütle içerisinde meydana gelen kavitasyon olgusu ile açıklanabilir. Kavitasyon, ultrasonik ışınlama sonucunda oluşan buhar kabarcıklarının meydana gelmesi ve çökmesi süreci olarak tanımlanmaktadır. Araştırmacılar,

süksüsyon işleminin kavitasyona neden olduğunu öne sürmektedir. İlerleyen bölümlerde ayrıntılı olarak ele alınacağı üzere, mevcut kavitasyon teorileri¹¹⁻¹⁴ prensip olarak bu çalışmada elde edilen bulguların açıklanmasına olanak sağlayabilmektedir.

Partiküllerin agregasyon davranışının, kaynak metalin fiziksel özelliklerine, özellikle de **erime noktasına** bağlı olduğu görülmektedir. Zincum metallicum preparatında bulunan çinko agregatları ile Stannum metallicum preparatında bulunan kalay agregatlarının, sırasıyla Aurum metallicum ve Cuprum metallicum preparatlarındaki altın ve bakır agregatlarına kıyasla daha büyük boyutlarda olduğu gözlenmiştir. Kütleli (*bulk*) ölçekte kalayın ve çinkonun erime noktaları sırasıyla yaklaşık 505 K ve 692 K iken, altın ve bakırın erime noktaları belirgin şekilde daha yüksek olup sırasıyla yaklaşık 1337 K ve 1357 K'dir. Metalik ve yarı iletken partiküllerde, partikül boyutunun küçülmesine bağlı olarak erime noktasının düşmesi olgusu da daha önce ayrıntılı biçimde tanımlanmıştır.¹⁵ Araştırmacılara göre, partikül yüzeylerinde oluşan son derece yüksek sıcaklıklar ile nanopartiküllerde gözlenen erime noktası düşüşünün birlikte etkisi, bu çalışmada gözlenen agregatların oluşumunu kolaylaştırmış olabilir.

Süksüsyon işlemi sırasında partiküller arasındaki çarpışmaların, yüzey sıcaklıklarını kalay ve çinkonun erime noktalarının üzerine çıkarabilecek düzeylere ulaştırdığı düşünülmektedir. Bu durum, söz konusu metallerin agregasyonunu kolaylaştırabilir. Buna karşılık, altın ve bakırın erime noktaları çok daha yüksek olduğundan, bu partiküllerde erime ve birleşme (*fizyon*) olaylarının meydana gelme sıklığının kalay ve çinkoya göre daha düşük olması beklenmektedir.

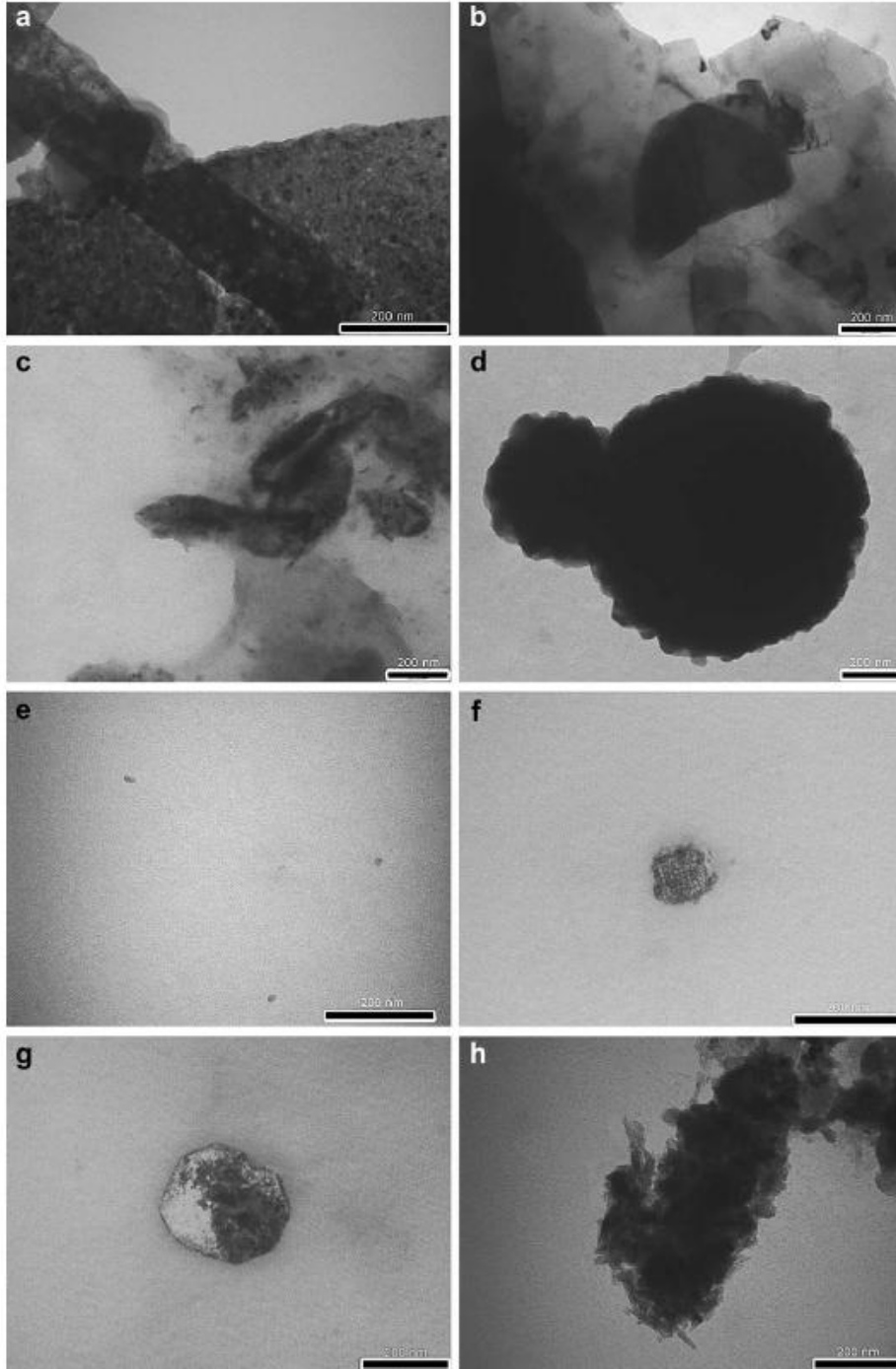
Genel olarak değerlendirildiğinde, aydınlık alan TEM görüntülerinden elde edilen veriler, belirli bir preparatta potans 30C'den 200C'ye yükseltildiğinde partiküllerin boyutu veya yapısında belirgin bir değişiklik olduğunu göstermemektedir. Bu nedenle, bireysel kristalit boyutları karanlık alan TEM kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 2a–d'de her iki üreticiye ait Zincum metallicum örnekleri için gösterildiği üzere). İncelenen tüm metaller için agregatlarda kristalitlerin en büyük bölümünün (yaklaşık %40–50) 5–10 nm boyut aralığında bulunduğu gözlenmiştir. Ayrıca tüm kristalitlerin %70–95'inin 15 nm'nin altında olduğu belirlenmiştir (Şekil S1 – Ek Bilgiler). Dolayısıyla karanlık alan TEM analizlerinde de kristalit boyut dağılımı açısından potans düzeyine bağlı belirgin bir farklılık saptanmamıştır.

SAED ile Partiküllerin Elementel Bileşiminin Doğrulanması

TEM analizlerinde tespit edilen nanopartiküller ve bunların agregatları, elementel bileşimlerinin doğrulanması amacıyla Seçilmiş Alan Elektron Difraksiyonu (SAED) yöntemiyle incelenmiştir. İlgili elementlere ait *d*-aralığı (*d-spacing*) değerlerinin hesaplanabilmesi için, aynı partikülden farklı yoğunluklarda çok sayıda SAED deseni elde edilmiştir. Bu yaklaşım, difraksiyon desenlerinin iç ve dış halkalarının daha net değerlendirilmesine olanak sağlamıştır. Metal kökenli homeopatik preparatlarda gözlenen nanopartikül ve agregatlara ait SAED desenleri Şekil 3(a–p)'de sunulmuştur.

Tüm örneklerin SAED analizleri, elde edilen desenlerin kaynak maddelerle uyumlu olduğunu göstermiştir. Özellikle her iki üreticiye (SBL ve WSI) ait Aurum metallicum ve Cuprum metallicum örneklerinde elde edilen difraksiyon desenleri, sırasıyla altın ve bakıra karşılık

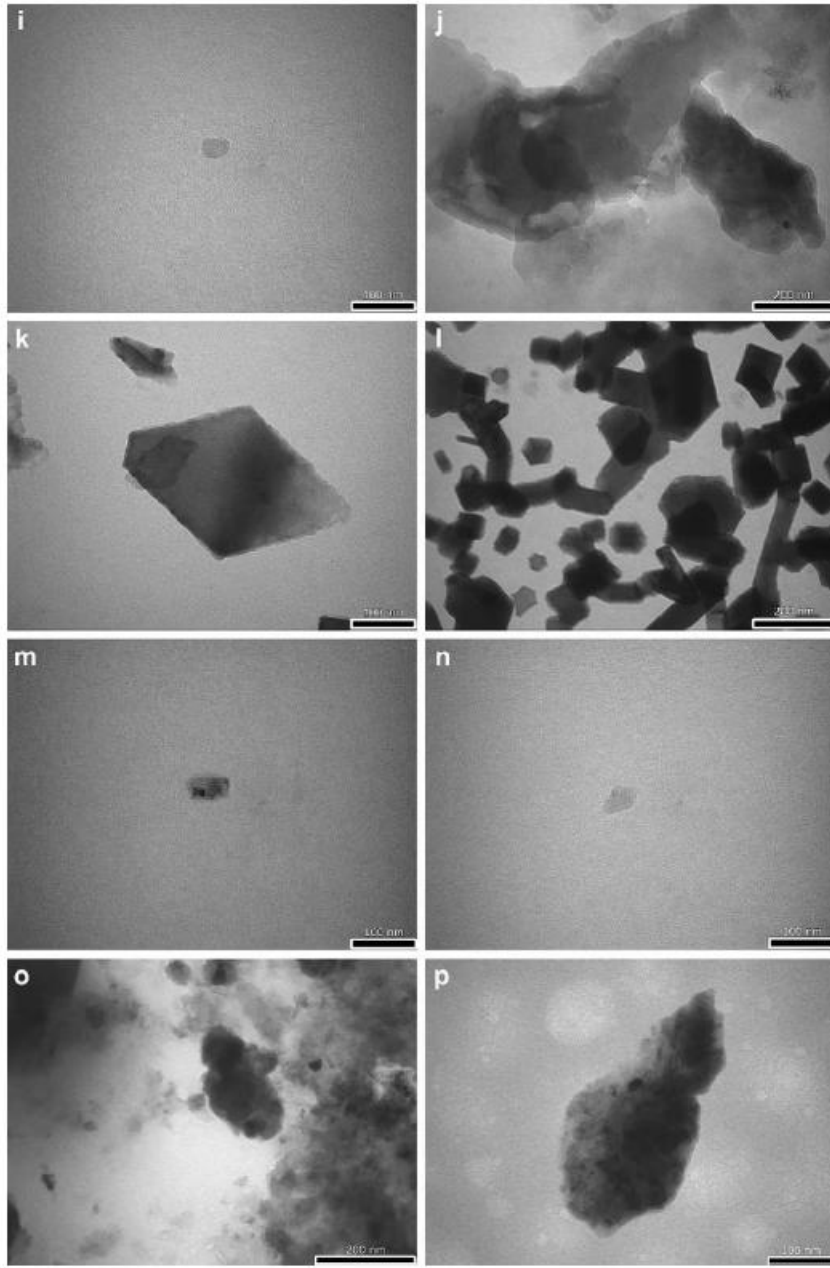
gelecek şekilde indekslenmiştir. Tablo 1'de, Aurum metallicum örneklerinde gözlenen partiküllere ait halka desenlerinin çaplarından hesaplanan d-aralığı değerleri verilmiştir. Benzer şekilde, SBL firmasına ait Stannum metallicum örneklerinde gözlenen desenler α -Sn (alfa kalay) fazı ile uyumlu bulunurken, WSI firmasına ait örneklerdeki desenler β -Sn (beta kalay) fazı ile eşleşmiştir. Her iki üreticiden elde edilen Zincum metallicum örneklerinde ise saf metalik çinko gözlenmemiştir. Bunun yerine, SAED desenlerinin çinkodan türeyen ve oluşması beklenen bir bileşik olan çinko hidroksit ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Çinko, kalay ve bakıra ait d-aralığı verileri Ek Bilgiler bölümünde Tablo S2–S5'te sunulmuştur.



Şekil 1. *Zincum metallicum, Aurum metallicum, Stannum metallicum ve Cuprum metallicum preparatlarının farklı potenslerinde gözlenen nanopartikül ve agregatların aydınlık alan Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) görüntüleri.*

Başlangıç maddelerine veya bunlardan türeyen yapılara ait kristalin türlerin (SAED desenlerinden anlaşılacağı üzere), 30C ve 200C gibi ultra-yüksek dilüsyonlarda dahi doğrulanmış olması dikkat çekici bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuç, başlangıç maddelerinin son derece yüksek dilüsyon basamaklarından sonra da sistem içerisinde varlığını koruduğunu göstermektedir.

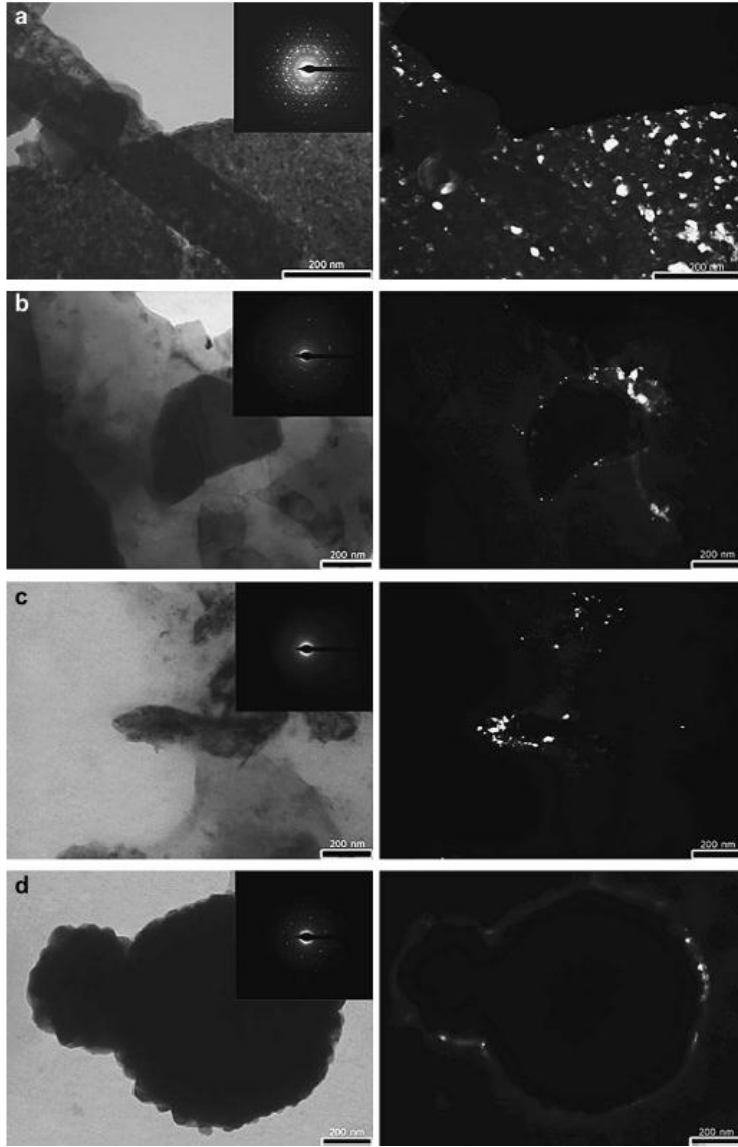
İncelenen elementlere ait d-aralığı (*d-spacing*) değerleri, literatürde yer alan **Ortak Toz Difraksiyon Standartları Komitesi (Joint Committee on Powder Diffraction Standards; JCPDS)** verileriyle büyük ölçüde uyumlu bulunmuştur. Ölçülen değerlerin çoğu, referans değerlerden $\pm\%2$ aralığında sapma göstermiştir.



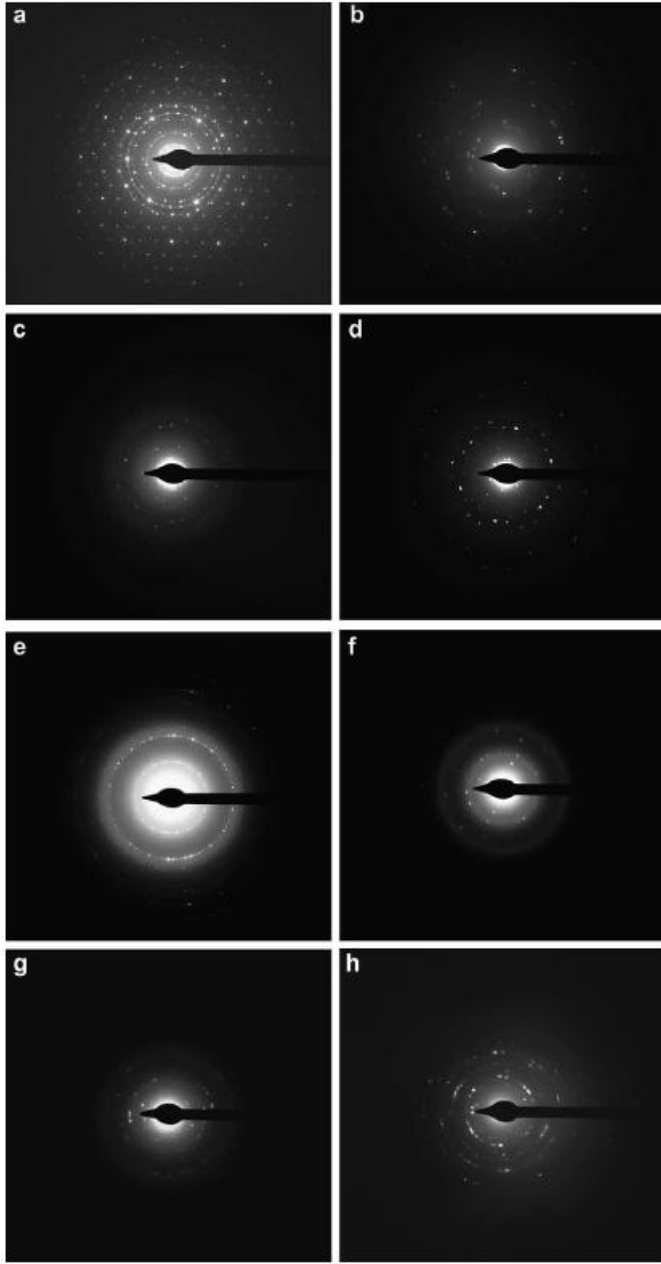
Şekil 1'in devamı

Bununla birlikte, kristal yapılardaki bazı düzlemlere karşılık gelen belirli d-aralığı değerlerinde yaklaşık $\pm\%4$ düzeyinde farklılıklar gözlenmiştir. Araştırmacılara göre bu sapmalar, kristal yapıda meydana gelen küçük ölçekli plastik deformasyonlar ile açıklanabilir. Ham maddelerin laktoz ile öğütüldüğü ilk tritürasyon basamaklarında ortaya çıkan yüksek kesme kuvvetleri ile birlikte, süksüsyon sırasında nanopartiküller arasında gerçekleşen yüksek hızlı çarpışmaların ve kavitasyon kabarcıklarının çökmesi sonucu oluşan şok dalgalarının, metal kristallerde sınırlı düzeyde plastik deformasyonlara neden olmuş olabileceği düşünülmektedir. İncelenen bazı metallere ait SAED desenlerinde, kristalin halka desenlerine ek olarak amorf yapılarda görülen difüz halka desenleri de gözlenmiştir. Nanopartiküllerin ve agregatların yüzeylerinde amorf

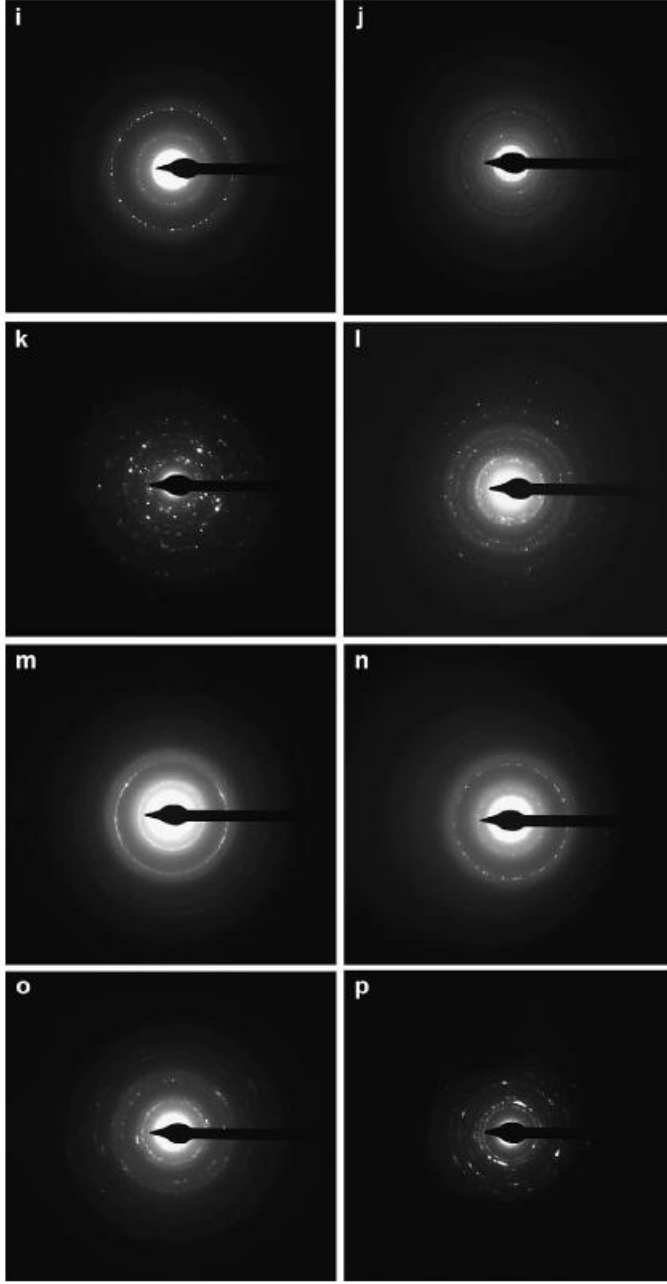
fazların bulunmasının olası nedenleri makalenin ilerleyen bölümlerinde tartışılmaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde, SAED verileri başlangıç maddelerine ait partiküllerin 30C ve 200C gibi yüksek potenslerdeki homeopatik preparatlarda da mevcut olduğunu göstermektedir. Bu başlangıç metallerinin ultra-yüksek potenslerdeki miktarlarını nicel olarak belirleyebilmek amacıyla araştırmacılar, söz konusu preparatlar üzerinde **İndüktif Eşleşmiş Plazma–Atomik Emisyon Spektroskopisi (ICP-AES)** analizleri gerçekleştirmiştir.



Şekil 2. Zincum metallicum preparatlarında gözlenen nanopartikül ve agregatların aydınlık alan ve bunlara karşılık gelen karanlık alan TEM görüntüleri. (a) 30C (SBL), (b) 200C (SBL), (c) 30C (WSI), (d) 200C (WSI). Şekil içerisindeki ek görüntülerde (*inset*) ilgili nanopartikül veya agregatlara ait SAED desenleri gösterilmektedir.



Şekil 3. Şekil 1(a–p)'de sunulan nanopartikül ve agregatlara karşılık gelen SAED desenleri. Zincum metallicum, Aurum metallicum, Stannum metallicum ve Cuprum metallicum preparatlarının 30C ve 200C potenslerine ait örneklerde elde edilen elektron difraksiyon desenleri gösterilmektedir.



ŞEKİL 3 'ün devamı

Tablo 1. Aurum metallicum 30C ve 200C potenslerinde elektron difraksiyon desenlerinden elde edilen d-aralığı değerlerinin karşılaştırılması

<i>hkl values</i>	<i>Relative intensity</i>	<i>d-spacing Gold [Å]</i>	<i>Aurum met 30C SBL – Figure 3(e)</i>	<i>Aurum met 200C SBL – Figure 3(f)</i>	<i>Aurum met 30C WSI – Figure 3(g)</i>	<i>Aurum met 200C WSI – Figure 3(h)</i>
111	100	2.3550			2.3515	2.3312
200	52	2.0390	2.0300	2.0393	2.0213	2.0224
220	32	1.4420		1.4389	1.4454	1.4418
311	36	1.2300	1.2000	1.2598		1.2514
222	12	1.1774		1.1809	1.1732	1.1695
400	6	1.0196	1.0700	1.0072	1.0152	1.0211
331	23	0.9358				0.9530
420	22	0.9120		0.9120	0.9079	
422	23	0.8325			0.8286	
333	–	0.7850	0.7600	0.7843		
440	–	0.7210		0.7179	0.7196	
531	–	0.6890		0.6939		
442	–	0.6800				
620	–	0.6450	0.6600			
533	–	0.6220				
622	–	0.6150				
444	–	0.5890				

Tablodaki tüm d-aralığı (d-spacing) değerleri Å birimiyle ifade edilmiştir. Kalın karakterle gösterilen değerler JCPDS 04-0784 standardından, diğer değerler ise Edington'un çalışmasından¹⁶ alınmıştır.

ICP-AES ile Başlangıç Maddelerinin Konsantrasyonunun Belirlenmesi

ICP-AES (İndüktif Eşleşmiş Plazma–Atomik Emisyon Spektroskopisi), metallerin ve diğer elementlerin miktar tayininde yaygın olarak kullanılan, güvenilir bir analitik yöntemdir. Kullanılan cihazın minimum tespit limiti 10 ppb olduğundan, homeopatik preparatların analiz öncesinde konsantre edilmesi gerekmiştir. Bu amaçla, analiz sırasında saptanacak metalin numuneye istem dışı eklenmesi olasılığını tamamen ortadan kaldıran bir konsantrasyon yöntemi uygulanmıştır.

Metal kökenli homeopatik remediler üzerinde, çözeltilerin konsantre edilmesinin ardından gerçekleştirilen analizler dikkat çekici sonuçlar ortaya koymuştur. Başlangıçta kullanılan metaller, tüm potenslerde (6C, 30C ve 200C) pikogram/mL (pg/mL) düzeylerinde tespit edilmiştir. Ölçülen konsantrasyonlar Tablo 2’de sunulmaktadır. Tabloda yer alan veriler, analiz edilen konsantre örneklerden geriye dönük hesaplama (back-calculation) yöntemiyle elde edilmiş olup, orijinal homeopatik preparatlardaki metal konsantrasyonlarını temsil etmektedir. Negatif kontrol olarak kullanılan %90 (v/v) etanolün analizinde, ne soy metallerin ne de kalayın varlığı saptanmıştır. Bakır ve çinko gibi metaller açısından ise, homeopatik remedilerde ölçülen değerlere kıyasla çok daha düşük konsantrasyonlar belirlenmiştir. Bu bulgular, başlangıç materyaline ait metal izlerinin yüksek potensli homeopatik preparatlarda dahi analitik olarak tespit edilebildiğini göstermektedir.

Başlangıç metallerinin varlığının araştırılması amacıyla Aurum met., Argentum met. ve Platinum met. örneklerinin çeşitli numuneleri analiz edildi. Aurum met. (SBL) örneklerinde, test edilen bazı numuneler, 30C ve 200C gibi yüksek potensler de dahil olmak üzere, yaklaşık 60–100 pg/mL düzeyinde altın varlığı gösterdi; bu düzeyler cihazın duyarlılık sınırının oldukça üzerindedir. Buna karşın, etanol-su negatif kontrollerinde altının varlığına ilişkin herhangi bir

sinyal gözlenmedi. Bununla birlikte, bazı Aurum met. (SBL) örneklerinde altın varlığı tespit edilmedi. Sonuçlarımız, başlangıç maddesinin konsantrasyonlarında partiler arasında (batch-to-batch) dikkate değer değişkenlik bulunduğuna işaret etmektedir. Belirli bir partinin üretim sürecinin sonunda başlangıç maddesi konsantrasyonlarını belirlemeye yönelik herhangi bir girişimde bulunulmamış olması ve hazırlama yönteminin manuel işlemleri içermesi göz önüne alındığında, bu durum şaşırtıcı değildir. Aurum met. (WSI) örneklerinde ise altın tespit edilebilir miktarlarda bulunmamıştır.

Benzer sonuçlar Argentum met. (SBL) örnekleri için de elde edilmiştir; gümüş, bir adet 30C ve bir adet 200C örneğinde sırasıyla 30,6 pg/mL ve 116 pg/mL konsantrasyonlarında tespit edilmiştir. Diğer örneklerdeki konsantrasyonlar tespit limitinin altında kalmıştır. Benzer şekilde, Platinum met. (SBL) örneklerinde tüm potenslerde platinin tespit edilebilir konsantrasyonları (yaklaşık 40–220 pg/mL) belirlenmiştir.

Bakır, kalay ve çinko gibi soy olmayan metallerin konsantrasyonları, bunlara karşılık gelen homeopatik preparatlar olan Cuprum met., Stannum met. ve Zincum met. örneklerinde daha yüksek olup (soy metallerde ölçülen değerlerin yaklaşık 2–30 katı) kolaylıkla tespit edilebilmiştir. Cuprum met. (SBL) örneklerinde çözeltilerde yaklaşık 500–2500 pg/mL düzeyinde bakır tespit edilmiştir. Benzer şekilde, WSI üretimi 6C potens örneklerinde de yüksek bakır konsantrasyonları belirlenmiştir (iki örnekte sırasıyla yaklaşık 370 pg/mL ve 900 pg/mL). Bununla birlikte, daha yüksek potensler olan 30C ve 200C örneklerinde bakır konsantrasyonları bazı numunelerde oldukça düşük bulunmuş (yaklaşık 10–40 pg/mL), diğerlerinde ise tespit limitinin altında kalmıştır. Benzer şekilde, Stannum met. (SBL) örneklerinde kalay tespit edilmiş olmakla birlikte, konsantrasyonlarda yaklaşık 70–1000 pg/mL arasında değişen oldukça yüksek varyasyonlar gözlenmiştir. Buna karşın, WSI üretimi Stannum met. homeopatik preparatlarında daha düşük kalay konsantrasyonları saptanmış olup, bunlar yaklaşık 20–180 pg/mL aralığında bulunmuştur. Yukarıda belirtilen diğer soy olmayan metal örnekleriyle karşılaştırıldığında, Zincum met. örneklerindeki çinko konsantrasyonu belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur. Zincum met. örneklerinde çinko varlığı tespit edilmiş ve üreticiler arasında konsantrasyonlar açısından oldukça yüksek varyasyonlar gözlenmiştir; SBL örneklerinde yaklaşık 200–2700 pg/mL, WSI örneklerinde ise yaklaşık 1400–4000 pg/mL düzeylerinde çinko belirlenmiştir.

Aynı remedinin, aynı potensin ve aynı üretim partisine ait örnek çiftlerinde, başlangıç maddelerinin tahmin edilen konsantrasyonları açısından iyi bir tekrarlanabilirlik (reproducibility) elde edilmiş olması güven vericiydi. Aynı üretim partisinden hazırlanan örneklerde %40'a kadar değişim gözlemlenirken, farklı üretim partilerine ait örneklerde bu değişim %1550'ye kadar ulaşmıştır. Bu sonuçlar aşağıdaki hususları açıkça ortaya koymuştur:

1. Analiz öncesinde homeopatik preparatların ön konsantrasyona tabi tutulmasını içeren yöntemimizin doğruluğunun doğrulanması. Bu durum, aynı üretim partisine ait örneklerde gözlenen sınırlı varyasyon ile gösterilmektedir (Tablo 2'de koyu olarak işaretlenmiş Cuprum met., Stannum met. ve Zincum met. veri setlerine bakınız).

2. Belirli bir üretici ve potens için başlangıç maddesi konsantrasyonlarında üretim partileri arasında (inter-batch) yüksek düzeyde varyasyon bulunması ve ayrıca farklı üreticiler arasında da önemli farklılıkların mevcut olması.

Tablo 2. Çeşitli potenslerde bulunan başlangıç metallerin ICP-AES ile tahmin edilen konsantrasyonları (pg/mL)

Homeopathic dilution	SBL (pg/ml)			WSI (pg/ml)	
	1	2	3	1	2
90%v/v Ethanol	ND	ND	ND	ND	ND
Aurum met 6c	81.4	76.4	ND	ND	Samples not obtained
Aurum met 30c	64.8*	ND	58.2	ND	ND
Aurum met 200c	ND	104.6	ND	ND	ND
90%v/v Ethanol	153.4	245.0	149.0	245.0	149.0
Cuprum met 6c	1199.0	995.2	1355.6*	893.4	370.8
Cuprum met 30c	730.2	703.2	1383.4*	38.6*	ND
Cuprum met 200c	485.4	432.2	2680.2*	ND	ND
90%v/v Ethanol	ND	ND	ND	ND	ND
Stannum met 6c	569.4	409.2	195.8*	180.8	153.0
Stannum met 30c	901.6	889.6	145.6	93.8	76.4
Stannum met 200c	877.8	1055.8	63.8*	20.8	73.0
90%v/v Ethanol	208.2	210.2	199.0	208.2	210.2
Zincum met 6c	380.0	366.0	1002.8	1432.6*	3989.6
Zincum met 30c	655.2	165.4	1224.0	3068.6*	1377.6
Zincum met 200c	357.8	191.2*	2743.6	2230.2*	2322.8
90%v/v Ethanol	ND	ND	ND	ND	ND
Argentum met 6c	ND	ND	30.6	ND	Samples not obtained
Argentum met 30c	ND	116.0	ND	ND	ND
Argentum met 200c	ND	ND	ND	ND	ND
90%v/v Ethanol	ND	ND	ND	ND	ND
Platinum met 6c	220.6*	Samples not obtained	ND	ND	Samples not obtained
Platinum met 30c	41.0*	ND	ND	ND	ND
Platinum met 200c	213.6	ND	ND	ND	ND

Belirli bir üretici ve potens için aynı satırda yer alan ve koyu (**bold**) olarak gösterilmiş örnek çiftleri, aynı üretim partisinden hazırlanmış olduklarını ifade etmektedir. Kullanılan cihazın Tespit Limiti (Limit of Detection, LOD) 10 ng/mL olup, bu değer orijinal çözeltilerde 20 pg/mL'ye karşılık gelmektedir. Bu değer altındaki tüm konsantrasyonlar "Tespit Edilemedi" (Not Detected, ND) olarak raporlanmıştır. *** Veriler, gerekli miktarın (2000 mL) hazırlanmasında kullanılan şişelerin aynı üretim partisine ait olduğunu göstermektedir.**

Buna göre, belirli bir potensdeki her bir metal kökenli homeopatik preparat için tahmin edilen değerler yaklaşık iki büyüklük mertebesi (2 orders of magnitude) genişliğinde bir aralık içerisinde yer almıştır. Bu varyasyonlar, üretim sırasında uygulanan süreçlere bağlanabilir. Saygın bir üreticiye yapılan ziyaret sırasında, başlangıçtaki laktoz tritürasyonlarının havan ve tokmak sistemine sahip otomatik bir cihaz kullanılarak gerçekleştirildiği gözlemlenmiştir. Başlangıç maddesine ait metal tozlarının 1x potensindeki partikül boyutlarının kontrolü dışında (başlangıç maddesi partiküllerinin %80'inin 10 µm'nin altında ve hiçbirinin 50 µm'nin üzerinde olmaması gerekmektedir), 6x tritürasyon karışımındaki metallerin dağılımına yönelik başka herhangi bir kontrol uygulanmamaktadır. (17) Söz konusu 6x tritürasyon karışımı, daha sonra gerçekleştirilen sıvı bazlı süksüsyon basamaklarının başlangıç materyalini oluşturmaktadır. Bu durumun, gözlenen büyük varyasyonların nedeni olduğu düşünülmektedir.

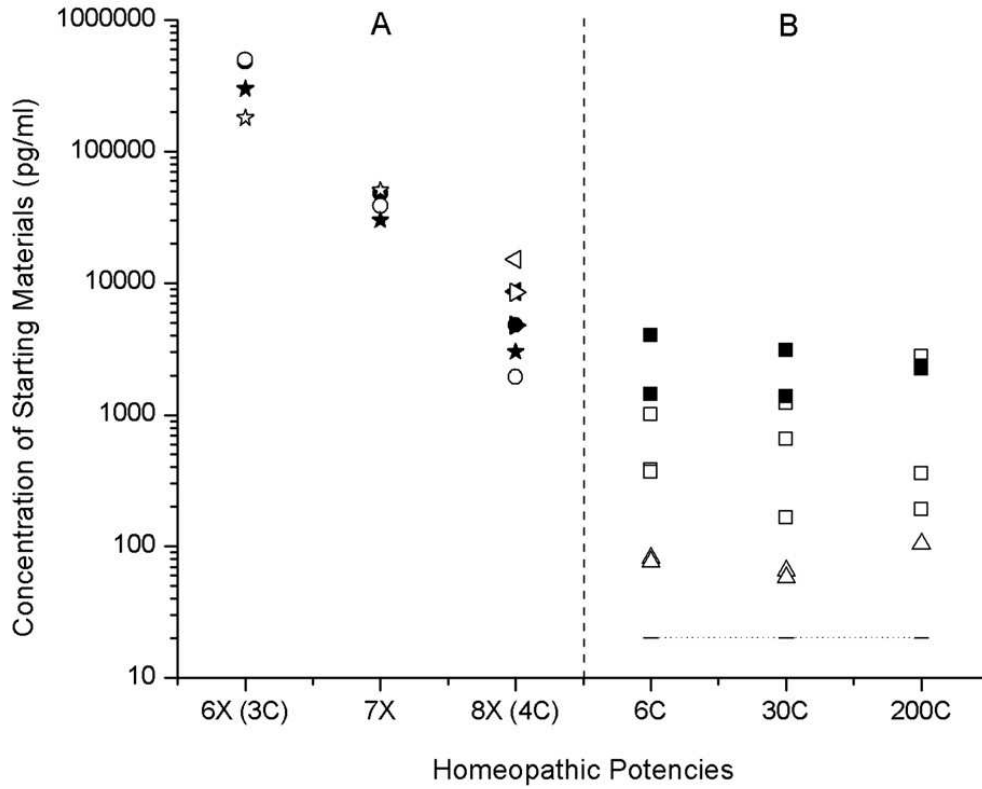
Sıvı dilüsyonlar ve potensizasyon basamakları (süksüsyon dahil) üretim sırasında manuel olarak gerçekleştirilmiştir. Bu süreçte, cam kap içerisindeki sıvının tamamı kauçuk bir yüzeye karşı on kez kuvvetle çarptırılmıştır. İnsan gücüyle gerçekleştirilen bu süksüsyon işlemlerinde, uygulanan darbe kuvvetinde ve oluşan kavitasyon miktarında kaçınılmaz farklılıklar meydana

gelmektedir. Laktoz ile gerçekleştirilen başlangıç tritürasyonuna ek olarak, süksüsyonun kendisi de başlangıç maddesine ait nanopartiküllerin oluşumunda önemli bir mekanizma olabilir. Bunun nedeni, bu nanopartiküllerin cam kabın duvarlarına karşı yoğun biçimde kesme kuvvetlerine maruz kalması, sıvı akışının oluşturduğu kesme etkileri ve muhtemelen oluşan ultrasonik dalgaların meydana getirdiği kaviteasyonların içe çökmesi sırasında gerçekleşen partikül çarpışmalarıdır. Bu nedenle, süksüsyon sırasında uygulanan kesme kuvvetindeki farklılıklar, başlangıç maddesine ait nanopartikül fraksiyonunun oluşumunda önemli değişikliklere yol açabilir ve bu durum üretim partileri arasında gözlenen varyasyonlar şeklinde ortaya çıkabilir.

Süksüsyon işlemi tamamlandıktan sonra, sıvının tamamı bir süre çökelmeye bırakılmış ve ardından bu dilüsyonun %1'lik kısmı, %90 (v/v) etanolün 99 kısmına aktarılmıştır. Bununla birlikte, dilüsyonların çökelmeye bırakılma süresi sabit tutulmamıştır. Ayrıca, bir sonraki dilüsyonu hazırlamak amacıyla önceki dilüsyondan alınan bir kısmın kaptan çekilmesi işlemi rastgele gerçekleştirilmiş ve manuel olarak uygulanmıştır. Yukarıda belirtilen tüm bu faktörlerin bir araya gelmesiyle, nihai homeopatik preparatlardaki başlangıç maddesi konsantrasyonlarında önemli farklılıklar oluşmasının beklendiği ve çalışmamızda gözlenen sonuçların da bunu yansıttığı düşünülmektedir.

Analizlerimiz sırasında ayrıca, başlangıç metallerinin konsantrasyonlarının 6C, 30C ve 200C potenslerde belirli bir aralıkta plato davranışı (Kararlı konsantrasyon seviyesi) gösterdiğini gözlemledik. Bu durum, 30C ve 200C potenslerin sırasıyla 6C potensden 10^{48} ve 10^{388} kat daha fazla seyreltilmiş olmasına rağmen ortaya çıkmıştır. Soy olmayan metaller için gözlenen plato düzeyinin, soy metaller için gözlenen plato düzeyinden daha yüksek metal içeriğine sahip olması dikkat çekicidir. ICP-AES sonuçlarımız, asimptotik etkinin yaklaşık 6C potens civarında başladığını göstermektedir (Şekil 4).

Concentrations of Starting Materials in Homeopathic medicines



Şekil 4. Homeopatik potenslerde başlangıç elementlerinin tahmini konsantrasyonları. A bölümü – Röder ve arkadaşları¹⁸ tarafından tahmin edilen değerler. Dolu semboller: beklenen konsantrasyonlar; boş semboller: tahmin edilen konsantrasyonlar. Daireler: Au³⁺; yıldızlar: Fe³⁺; sola bakan üçgenler: Hg²⁺; sağa bakan üçgenler: Zn²⁺. B bölümü – Bu çalışmada ICP-AES kullanılarak tahmin edilen değerler. Kareler: çinko konsantrasyonları; boş kareler: Zincum met. (SBL); dolu kareler: Zincum met. (WSI); boş üçgenler: Aurum met. (SBL) örneklerindeki altın konsantrasyonları. 20 pg/mL'de gösterilen noktalı çizgi, cihazın tespit limitini (Limit of Detection, LOD) göstermektedir.

Grafiğin A bölümündeki veriler ile bizim verilerimiz (B bölümü) karşılaştırıldığında, 6C potensinde ulaşılan bir plato etkisinin (kararlı konsantrasyon düzeyi) mevcut olduğu görülmektedir. Her bir metal için bir plato düzeyine ulaşılmış olmakla birlikte, konsantrasyon aralıkları metalden metale ve üreticiler arasında farklılık göstermiştir. Zincum met. (WSI) için gözlenen plato düzeyi (dolu kareler), daha önce belirtilen doğal varyasyonlar da dikkate alındığında, Zincum met. (SBL) için gözlenen plato düzeyinden (boş kareler) belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur. Zincum met. (WSI) örneklerinde plato düzeyi yaklaşık 1300–4000 pg/mL arasında değişirken, SBL örneklerinde daha düşük değerler gözlenmiştir. Benzer eğilimler, analiz edilen diğer tüm metaller için de gözlenmiştir.

Yüksek Dilüsyonlarda Olası Temel Mekanizmalar

İyi araştırılmış bir fenomen olan akustik kavitezyon, TEM analizlerinde gözlemlediğimiz yüzey pürüzlülükleri (asperiteler) ve partikül agregasyonlarını açıklayabilir. Yapılan çalışmalarda, yüksek enerjili ses dalgalarının etkisiyle oluşan buhar kabarcıklarının birkaç bin dereceyi aşan sıcaklıklara (yaklaşık 5000 K) ve son derece yüksek basınçlara (yaklaşık 1000 atm) ulaştığı

gösterilmiştir. Oluşan bu kabarcıklar, çok kısa süre içerisinde implozyona uğrayarak güçlü şok dalgaları meydana getirir. Bu şok dalgaları, çözeltideki partikülleri son derece yüksek hızlarla hareket ettirerek çarpışmalarına neden olur ve bunun sonucunda partikül yüzeylerinde aşağıdaki morfolojik değişiklikler ortaya çıkabilir:

1. Partiküllerin doğrudan (baş başa) çarpışması durumunda, temas noktasında lokalize yüzey erimesi meydana gelir ve bu bölgelerde sıcaklık yaklaşık 3000 K'ye ulaşabilir. Çevredeki sıvının ortam sıcaklığında bulunması nedeniyle eriyen yüzeyler son derece yüksek soğuma hızlarıyla ($>10^{10}$ K/s) anında katılır. Böylece eriyen bölgeler temas noktasında kaynaşarak partikül agregatlarının oluşmasına yol açar.
2. Son derece hızlı gerçekleşen bu soğuma süreci, temas bölgesinde yeniden kristallenmeye izin vermediğinden, partikül yüzeyinde amorf bir fazın oluşmasına neden olur. Bu durum, elektron difraksiyon (ED) desenlerinde gözlenen difüz halkalarla desteklenmektedir.
3. Partiküllerin eğik açıyla çarpışması ise yüzey parçalanmalarına yol açabilir. Bu parçalanmaların, gözlenen yüzey asperitelerinin oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Yukarıda açıklanan mekanizmalar, TEM görüntülerinde gözlemlediğimiz yüzey asperitelerinin varlığını desteklemektedir. Süksüsyon işlemi sırasında cam kapların kuvvetli şekilde darbelere maruz bırakılması, ultrasonik dalgaların oluşumuna neden olmuş ve bunun sonucunda söz konusu yüzey yapılarının meydana gelmesine katkı sağlamış olabilir.

Gözlemlerimizden kaynaklanan bir diğer soru, başlangıç maddesine ait partiküllerin bu denli yüksek dilüsyonlara rağmen 200C potensine kadar nasıl korunabildiğidir. Bu sorunun yanıtı, üretim sürecinin kendisinde yatıyor olabilir.

Süksüsyon işlemi sırasında çözeltinin kauçuk bir yüzeye kuvvetle çarpması sonucunda, havanın hapsolmesi ve ultrasonik dalgaların oluşturduğu kavitasyon etkisi nedeniyle çok sayıda nanokabarcık oluştuğu düşünülmektedir. Başlangıç maddesine ait partiküller, bu kabarcıkların ve kavitasyon boşluklarının yüzeylerine anında adsorbe olmaktadır.

Bu durum, emülsifiye olmuş fazın (hava kabarcıkları veya sıvı damlacıkları gibi) bir partikül tabakası tarafından stabilize edildiği Pickering emülsiyonlarının oluşum mekanizmasına benzerlik göstermektedir.

Oluşan nanopartikül–nanokabarcık kompleksleri çözeltinin üst kısmına yükselir ve toplam metal konsantrasyonları 1 ppm'in oldukça altına düştüğünde (Ek Bilgi Tablo S6), bu kompleksler yüzeyde tek katmanlı (monolayer) bir yapı oluşturabilir. Sonraki dilüsyon basamağına aktarılan kısım, çözeltinin üst tabakasındaki bu yaklaşık %1'lik bölgedir. Bu kısım, 99 birim taze çözücü içeren yeni kaba aktarılır ve süksüsyon işlemi yeniden uygulanır.

Her dilüsyon basamağında üstteki %1'lik tabakanın aktarılması sayesinde, konsantrasyon belirli bir eşik değerinin altına düştükten sonra, yani sistem tek katmanlı yüzey kaplanması bölgesine ulaştığında, başlangıç maddesine ait partiküllerin tamamı bir sonraki dilüsyona taşınmaya

devam edebilir. Bunun sonucunda ise 6C potensinden sonra konsantrasyon değişiminin giderek azalması ve asimptomatik (kararlı) bir davranış sergilemesi beklenir.

Sonuç

Gelişmiş analiz teknikleri (TEM, SAED ve ICP-AES) kullanılarak, başlangıç maddelerine ait nanopartiküllerin ve bunların agregatlarının son derece yüksek dilüsyonlarda dahi varlığını gösterdik. Nanopartiküllerin doğrulanmış varlığı, homeopatik ilaçlarda dilüsyonun rolüne ilişkin mevcut yaklaşımları sorgulatmaktadır.

Elde ettiğimiz bulgular, başlangıç maddelerine ait konsantrasyonların 6C potensine ulaştıktan sonra kararlı bir düzeye eriştiğini ve daha yüksek potenslerde de bu düzeyin korunduğunu göstermektedir. Ayrıca, 6C ile 200C potensleri arasında dilüsyon derecesinde son derece büyük farklılıklar bulunmasına rağmen (10^{12} – 10^{400}), başlangıç maddesine ait partiküllerin morfolojik özelliklerinde (şekil ve boyut) ve mutlak konsantrasyonlarında (pg/mL düzeyinde) önemli değişiklikler gözlenmemiştir.

Potensin artmasıyla biyolojik aktivitede meydana gelen değişimlerin nasıl gerçekleştiği konusu ise ileri araştırmalar gerektirmektedir. Çalışmamızda ortaya konulan partikül varlığına ilişkin somut kanıtların, potente homeopatik preparatların daha iyi anlaşılmasına yönelik araştırmalara katkı sağlayabileceği ve aynı zamanda bilimsel camianın bu tedavi yaklaşımına yönelik algısının olumlu yönde değişmesine yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, bu çalışma kapsamında herhangi bir finansal veya kişisel çıkar çatışmasının bulunmadığını beyan etmektedir.

Teşekkür

Yazarlar, ICP-AES analizleri için IIT Bombay Yer Bilimleri Bölümü'ne ve TEM analizleri için Cryo-TEM Merkez Laboratuvarı'na teşekkür eder. Ayrıca, çalışmanın finansal olarak desteklenmesinden dolayı Shridhar Shukla, S. G. Kane ve IIT Bombay Endüstriyel Araştırmalar ve Danışmanlık Merkezi'ne (IRCC) şükranlarını sunarlar. Deęerli katkıları ve görüşleri için P. N. Varma'ya da teşekkür ederler.

Ek Veri

Bu makaleye ait ek verilere, çevrimiçi sürüm üzerinden erişilebilmektedir (doi:10.1016/j.homp.2010.05.006).

KAYNAKLAR

References

1 Khuda-Bukhsh AR. Laboratory research in homeopathy: Pro. Integr Cancer Ther 2006; 5: 320e332.

2 Khuda-Bukhsh AR. Towards understanding molecular mechanisms of action of homeopathic drugs: an overview. *Mol Cell Biochem* 2003; 253: 339e345.

3 Davenas E, Beauvais F, Amara J, et al. Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE. *Nature* 1988; 333: 816e818.

4 Chaplin MF. The memory of water: an overview. *Homeopathy* 2007; 96: 143e150.

5 Teixeira J. Can water possibly have a memory? A skeptical view. *Homeopathy* 2007; 96: 158e162.

6 Anagnostatos GS. Small water clusters (clathrates) in the homeopathic preparation process. In: Endler PC, Schulte J (eds). *Ultra High Dilution e Physiology and Physics*. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1994, p. 121e128.

7 Rao ML, Roy R, Bell IR, Hoover R. The defining role of structure (including epitaxy) in the plausibility of homeopathy. *Homeopathy* 2007; 96: 175e182.

8 Walach H, Jonas WB, Ives J, van Wijk R, Weingaertner O. Research on homeopathy: state of the art. *J Altern Complement Med* 2005; 11: 813e829.

9 Davydov AS. Energy and electron transport in biological systems. In: Ho MW, Popp FA, Warnke U (eds). *Bioelectrodynamics and Biocommunication*. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 1994. Chap 17, pp 411e430.

10 Anick DJ, Ives JA. The silica hypothesis for homeopathy: physical chemistry. *Homeopathy* 2007; 96: 189e195.

11 Doktycz SJ, Suslick KS. Interparticle collisions driven by ultrasound. *Science* 1990; 247: 1067e1069.

12 Suslick KS, Doktycz SJ. The sonochemistry of Zn powder. *J Am Chem Soc* 1989; 111: 2342e2344.

13 Suslick KS, Price GJ. Applications of ultrasound to materials chemistry. *Annu Rev Mater Sci* 1999; 29: 295e326.

14 Suslick KS. The chemical effects of ultrasound. *Sci Am* 1989 (Feb);80e86.

15 Goldstein AN, Echer CM, Alivisatos AP. Melting in semiconductor nanocrystals. *Science* 1992; 256: 1425e1427.

16 Edington JW. Philips technical library e monographs in practical electron microscopy in materials science 2 e electron diffraction in the electron microscope. Eindhoven: N.V. Philips', 1975, p 110.

17 Varma PN, Vaid I. *Encyclopedia of homeopathic pharmacopoeia & drug index*. New Delhi: B. Jain Publishers, 2007, pp 2722e2745.

18 Roöder E, Puätz W, Frisse R. Bestimmung von Au, Fe, Zn und Hg in homoöpathischen Dilutionen durch zerstörungsfreie Neutronenaktivierungsanalyse. *Fresenius Z Anal Chem* 1981; 307: 120e126.

19 Roy R, TillerWA, Bell I, Hoover MR. The structure of liquid water: novel insights from materials research; potential relevance to homeopathy. *Mater Res Innov* 2005; 9: 577e608.

20 Pickering SU. Emulsions. *J Chem Soc* 1907; 91: 2001e2021.

21 Binks BP. Particles as surfactants e similarities and differences. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 2002; 7: 21e41.

22 Binks BP, Lumsdon SO. Influence of particle wettability on the type and stability of surfactant-free emulsions. *Langmuir* 2000; 16: 8622e8631.