

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :

(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 515 960

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 81 20801

(54) Nanocapsules ou nanoparticules biodégradables contenant une substance biologiquement active, leur préparation et leur application.

(51) Classification internationale (Int. Cl.³). A 61 K 9/50.

(22) Date de dépôt 6 novembre 1981.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du public de la demande B.O.P.I. — « Listes » n° 19 du 13-5-1983.

(71) Déposant : AL KHOURI FALLOUH NAZIR. — FR.

(72) Invention de : Al Khouri Fallouh Nazir.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire :

La présente invention concerne des nanocapsules ou des nanoparticules biodégradables formées d'un cyanoacrylate d'alkyle polymérisé et contenant une substance biologiquement active, leur préparation et leurs applications.

Les nanocapsules suivant l'invention, Au microscope électronique à transmission, se présentent après coloration négative avec l'acide phosphotungstique sous la forme d'une particule non contrastée sensiblement ronde. Leur diamètre est homogène et le mode de préparation proposé permet de le maîtriser.

Selon les conditions opératoires il est possible d'obtenir des nano-
10 capsules dont le diamètre va de quelques dizaines à plusieurs centaines de nanomètres. L'enveloppe externe des nanocapsules contenant une huile ou une substance active dispersée dans une huile apparaît au même microscope après double coloration successive, positive avec l'acide osmique qui contraste l'intérieur des nanocapsules et négative avec l'acide phosphotungstique.
15 L'huile et le principe actif sont enrobés totalement par une paroi d'épaisseur très régulière de l'ordre de quelques nanomètres. La paroi est formée par la polymérisation d'un cyanoacrylate d'alkyle et plus particulièrement l'isobutyle - 2 cyanoacrylate.

Au microscope électronique à balayage les nanocapsules après lavage
20 pour éliminer l'huile et après ombrage avec une couche d'or, apparaissent sous forme de particules sphériques ayant approximativement de même dimension.

Le taux d'encapsulation est toujours très élevé dans le cas de produits lipophiles. 1 ml de monomère permet par exemple d'encapsuler 8 ml d'huile ultrafluide iodée (lipiodol) à 48 % d'iode p/v ou 400 mg d'un produit anti-
25 tumoral la lomustine (C.C.N.U) et 4 ml d'une huile utilisée comme support.

Les nanocapsules contenant une huile telle que le lipiodol ultra-fluide sont stables à l'autoclavage pendant plus de 15 minutes à 120 °C sous une pression d' 1 bar.

Les nanocapsules sont stables à l'ultracentrifugation. Après une ultracentrifugation à 220 000 g pendant 1 heure 30 la plus grande part des nano-
30 capsules peut être facilement rédispersée dans l'eau.

Les nanocapsules sont stables à la congélation. La taille moyenne reste la même après congélation à - 52 °C.

Les nanocapsules sont stables dans le temps. La taille moyenne de nano-
35 capsules contenant 20 % de lipiodol ultra-fluide reste inchangée après 6 mois de conservation à la température ambiante ou à 50 °C.

Les nanocapsules assurent la stabilité de principes actifs habituellement instables en milieu aqueuse. La lomustine par exemple dont la demi-vie est de l'ordre de 20 à 200 minutes dans l'eau à 37 °C et à pH 7 reste stable
40 dans les nanocapsules.

Les résultats précédents ne peuvent s'expliquer que par la présence d'une paroi enveloppant le matériel encapsulé et que par une encapsulation complète du principe actif.

La substance biologiquement active contenue dans les nanocapsules de l'invention peut être par exemple une substance médicamenteuse à usage humain ou vétérinaire ou un produit pour le diagnostic. Comme substance médicamenteuse, on peut citer plus particulièrement les produits chimiques doués de propriétés pharmacologiques et par exemple, les substances antimitotiques ou antinéoplasiques comme la lomustine (C.C.N.U), le méthotrexate, l'actinomycine D, l'adriamycine, la daunorubicine, la bléomycine et la vincristine ou les substances antibiotiques comme les pénicillines les céphalosporines et l'acide nalidixique, les antibiotiques du type aminoglycoside et ceux de la famille de la virginiamycine et les substances hormonales, notamment les hormones stéroïdiques, comme la progéstérone. Ces substances médicamenteuses peuvent être notamment des composés chimiques à haut poids moléculaire comme l'insuline et l'héparine et l'expression substances médicamenteuses, comprend également des produits biologiques comme les antigènes, les allergènes, les enzymes, les protéines, les virus ou des constitutants de virus, de bactéries ou de cellules. Les nanocapsules suivant l'invention peuvent également contenir un produit pour le diagnostic notamment des produits radiopaves lipophiles telle que les huiles iodées.

En médecine humaine ou vétérinaire les particules submicroscopiques de l'invention peuvent être administrées avec un excipient adéquat par voie orale, sous-cutanée, intradermique intramusculaire ou intraveineuse et leur diffusion dans les tissus les rend particulièrement intéressantes pour les traitements par voie générale.

On connaît déjà des particules de diamètre inférieur à 500 nanomètres formées d'une matière polymérisée, ainsi que leur préparation et leur application notamment comme support d'une substance biologiquement active.

Ainsi, les brevets belges N° 808.034 et 839.748 décrivent des particules submicroscopiques formées de matières polymérisables comme les dérivés de l'acide acrylique ou méthacrylique, par exemple le méthacrylate de méthyle, le méthacrylate de butyle, le méthacrylamide ou un mélange de ces composés. Les particules submicroscopiques formées par polymérisation micellaire de ces différents monomères ont à la fois la propriété d'enrober totalement ou partiellement la substance biologiquement active et la propriété de former des solutions aqueuses colloïdales qui permettent une administration parentérale de ces particules ainsi chargées de substances biologiquement actives.

Cependant, les polymères des dérivés de l'acide acrylique ou méthacrylique décrits dans ces brevets pour la préparation de particules submicro-

scopiques contenant une substance biologiquement active sont substantiellement stables de sorte qu'ils subsistent longtemps tels quels dans les tissus ou dans la cavité où ils ont été administrés et ceci constitue un inconvenient, plus particulièrement dans le cas d'administration parentérale en 5 médecine humaine.

Le brevet belge N° 869.107 remédie à ce désavantage en décrivant des nanoparticules biodégradables contenant une substance biologiquement active . Le matériau utilisé est constitué par des polymères de cyanoacrylate d'alkyles déjà utilisés en chirurgie comme adhésifs tissulaires et connus pour 10 leur biodégradabilité. Son inconvenient majeur tient à la structure des particules obtenues et au mode d'incorporation de la substance active . Le mode opératoire décrit permet seulement de préparer des particules formées d'un réseau polymérique très dense . La substance active ne peut être incorporée que par adsorption et le taux fixé est toujours relativement faible.

	Quantité de monomère utilisée	Quantité de principe actif mise en œuvre	% d'adsorption
15	0,83 ml Methylcyanoacrylate	1 mg Actinomycine D	90 %
	0,83 ml -	1 mg -	90 %
	0,83 ml -	1 mg -	90 %
20	0,6 ml Ethylcyanoacrylate	10 mg Fluorescéine	65 - 70 %
	0,83 ml Methylcyanoacrylate	5 mg Methotrexate	25 ± 5 %
	0,6 ml -	10 mg Daunorubicine	85 %

Les nanocapsules faisant l'objet de la présente invention sont constituées comme les nanoparticules précédentes de poly-alkylcyanoacrylates Elles 25 ont donc comme elles l'avantage d'être biodégradables. Leur administration est suivie d'une libération de la substance biologiquement active, et il est possible d'obtenir une biodegradabilité, convenablement programmée en faisant appel à des polyalkylcyanoacrylates différent entre eux par la nature de la chaîne alkyle.

30 Les nanocapsules de la présente invention présentent de plus l'avantage de permettre un taux d'incorporation nettement plus élevé. Contrairement aux nanoparticules formés d'un réseau très dense elles sont constituées d'une paroi entourant une cavité creuse et la présence de cette dernière permet d'encapsuler des quantités de substances actives beaucoup plus grandes.

35 Un autre avantage des cyanoacrylates d' alkyle sur les autres dérivés acryliques précédemment utilisés pour la préparation de particules submicroscopiques contenant une substance biologiquement active réside dans le procédé utilisable pour leur polymérisation. En effet, contrairement aux autres

dérivés acryliques dont la polymérisation requiert un apport énergétique susceptible de nuire à la stabilité du principe actif adsorbé , les cyano-acrylates d'alkyle polymérisent particulièrement facilement sans un tel apport.

Avec le procédé faisant l'objet de la présente invention il est possible
5 de nanoencapsuler toutes les huiles végétales ou minérales et toutes les substances huileuses qui sont solubles ou qui forment une émulsion suffisamment fines dans l'éthanol absolu , ou dans tout solvant pouvant jouer le même rôle . Comme solvants peuvent être utilisés notamment tous ceux missibles à l'eau et pouvant solubiliser l'huile et le monomère.

10 Dans le cas d'une huile ou d'une substance active huileuse le principe de la préparation des nanocapsules en prenant l'éthanol absolu (alcool absolu) comme exemple de solvant est le suivant.

- a) On solubilise l'huile ou la substance huileuse et le monomère dans l'alcool absolu.
- 15 b) On injecte lentement la solution précédemment préparée à l'aide d'un dispositif approprié dans de l'eau déminéralisée ou déminéralisée et distillée contenant éventuellement 0,5 % à 1 % d'un surfactif non ionique , par exemple le Pluronic F 68 sous agitation magnétique. L'encapsulation se fait immédiatement. La solution devient blanche, laiteuse et présente l'effet Tyndall caractéristique des solution colloïdales.
- c) On élimine l'alcool et on concentre les nanocapsules . Dans un évaporateur approprié et sous légère dépression l'alcool est évaporé et une part importante de l'eau peut être éliminée. Il est possible ainsi de concentrer les nanocapsules.

Theorie de l'encapsulation:

Dans le solvant par exemple dans l'éthanol absolu, la substance huileuse et le monomère forment une solution vraie. Le monomère possède des propriétés tensio-actives grâce à sa structure particulière. L'huile est complètement lipophile. Le stade important de la préparation est l'injection lente de la solution contenant l'huile et le monomère dans la phase aqueuse.L'alcool absolu possède une affinité considérable pour l'eau, et au moment du contact, il se mélange rapidement avec cette dernière en dégagant une certaine quantité de chaleur (appelée chaleur du mélange). La substance huileuse précipite en formant des petites particules de l'ordre du nanomètre. Au même moment les molécules du monomère s'orientent grâce à leur polarité en formant un film qui enrobe complètement les nanoparticules d'huile. En présence d'eau le film constitué du monomère se polymérise à la surface des nanoparticules, au moins de 30 secondes. Le rôle du surfactif utilisé est plus ou moins important. Il est possible d'obtenir des nanocapsules dans de l'eau sans

surfactif. Toutefois les nanocapsules ainsi obtenues s'agglomèrent rapidement dans le cas où il est intéressant de concentrer, en formant des agrégats difficiles à redisperser.

La méthode décrite permet aussi de nanoencapsuler toute substance active non huileuse soluble dans l'éthanol absolu et insoluble dans l'eau en utilisant un support huileuse approprié. Dans ce cas le mode opératoire est analogue. Il suffit de solubiliser la substance active avec le support huileuse et le monomère dans l'éthanol absolu. Ce procédé peut être utilisé par exemple pour préparer des nanocapsules de lomustine (C.C.N.U) ou de progesterone.

Les substances actives insolubles dans l'éthanol absolu, et solubles dans l'eau peuvent également être encapsulées. Il suffit qu'elles présentent une certaine affinité pour la phase lipophile. Le procédé de préparation des nanocapsules suivant l'invention est analogue. Il suffit de solubiliser la substance active dans la phase aqueuse. Le taux d'encapsulation dépend du coefficient du partage de la substance active et de sa lipophilie.

Dans le cas d'une substance active insoluble dans l'eau et dans l'éthanol absolu, il est possible d'obtenir une encapsulation en préparant une suspension de la substance active dans un support huileuse approprié. Il faut alors que la taille des particules de la substance active en suspension soit en rapport avec le diamètre souhaité pour les nanocapsules.

Il est également possible de préparer avec ce procédé des nanoparticules (nanosphères) dont la structure est voisine de celle des nanoparticules décrites dans le brevet d'invention belges N° 869.107. Pour préparer ces nanoparticules suivant le procédé faisant l'objet de cette invention il suffit de ne pas utiliser de support huileuse lors de la préparation. Le procédé conduit alors à des nanoparticules biodégradables.

L'avantage de ce nouveau procédé par rapport à la méthode décrite dans le brevet belge N° 869.107 est alors qu'il élimine les contraintes de PH. La méthode décrite dans le brevet belge oblige à préparer les nanoparticules entre PH 2 et 3. Avec la méthode faisant l'objet de la présente invention on peut préparer les nanoparticules à tout PH. Il n'est pas nécessaire d'opérer en milieu acide et cet avantage est important par exemple dans le cas de produits instables ou qui cristallisent dans un tel milieu. Un autre avantage de la préparation des nanoparticules selon le procédé faisant l'objet de cette invention est la possibilité qu'elle offre de fixer sur les nanoparticules des substances insolubles dans l'eau. Le troisième avantage de cette nouvelle méthode de préparation des nanoparticules est qu'elle permet d'obtenir des nanoparticules de taille moyenne très faible. Il est possible par exemple de préparer des nanoparticules contenant de la lomustine

ou de la progestérone et présentant une taille moyenne de 80 nm.

Une étude a été faite pour apprécier l'influence sur la taille des nanocapsules et des nanoparticules de la température de la phase aqueuse, de la concentration en surfactif, du PH de la phase aqueuse, et de la concentration en éthanol absolu, L'étude a été faite notamment avec des nanocapsules préparées avec du lipiodol ultra-fluide et l'isobutyl-2 cyanoacrylate. Elle a montré que la taille augmente avec la température.

L'influence de la concentration en surfactif et celle du PH sont limitées, toutefois à faible PH la réaction de polymérisation est excessivement rapide. Le facteur le plus important est la concentration en éthanol absolu. Lorsque celle dernière est augmentée la taille moyenne des nanocapsules est significativement réduite.

L'invention est illustrée par les exemples suivants qui n'en limitent pas la portée.

15

Exemple 1

Dans 4 ml de lipiodol ultra-fluide (esters éthyliques des acides gras iodés de l'huile d'oeillette à 48 g d'iode par 100 ml) on dissout 0,5 ml d'isobutyl-2 cyanoacrylate monomère (colle biologique I.B.C-2 ETHICON) et on solubilise le tout dans 30 ml d'éthanol absolu.

20

On dissout d'autre par 0,5 g de Pluronic F 68 (polymère mixte d'oxyde d'éthylène et de polypropylène glycol), agent de surface nonionique, dans 50 ml d'eau déminéralisée. On injecte alors lentement la solution alcoolique à l'aide d'un dispositif approprié dans la phase aqueuse, sous agitation magnétique énergique.

25

La polymérisation qui s'effectue spontanément rend d'abord la suspension opalescente et lui confère ensuite un aspect laiteux. La taille des nanocapsules est mesurée immédiatement après la réaction avec un "Nano-Sizer". Les nanocapsules ont une taille moyenne égale à 265 nm avec une polydispersion de 0,75.

30

La suspension des nanocapsules est ensuite concentrée sous vide léger et à faible température jusqu'à un volume de 20 ml pour éliminer l'éthanol absolu, et avoir une taux d'iode convenable. Les nanocapsules sont ensuite filtrées sur verre fritté dont les pores ont un diamètre compris entre 9 et 15 micromètres. La taille des nanocapsules est mesurée de nouveau au "Nano-Sizer". La taille moyenne et la polydispersion sont restées inchangées. Une partie de la suspension des nanocapsules est centrifugée à 220.000 g pendant 1h1/2. Le culot constitué des nanocapsules blanches, peut être redispersées dans l'eau par simple agitation (partie supérieure).

35

La redispersion ne peut s'expliquer que par l'existence de nanocapsules solides.

L'examen des nanocapsules au microscope électronique à transmission révèle qu'elles ont une forme sphérique de diamètre moyen très homogène .

Exemple 2

On procède comme décrit dans l'exemple 1, mais sans le monomère. On constate que 99 % de la quantité de l'huile utilisée se sépare au fond du bêcher. Cet essai montre le rôle fondamentale du monomère .

Exemple 3

On procède comme décrit dans l'exemple 1, et on stérilise les nanocapsules concentrées dans un autoclave à 120 °C pendant 15 minutes .

L'examen des nanocapsules au microscope électronique avant et après la stérilisation ne montre aucun changement. La taille moyenne des nanocapsules avant et après la stérilisation mesurée au Nano-Sizer est sensiblement la même .

Exemple 4

On procède comme décrit dans l'exemple 1, mais on utilise les quantités suivantes: 8 ml de lipiodol , 1 ml d'isobutyle- 2 cyanoacrylate, 100 ml d'éthanol absolu et 2 g de Pluronic F 68 solubilisé dans 200 ml d'eau déminéralisée . On prépare 3 lots de nanocapsules suivant la méthode générale. On mélange les trois lots et on concentre jusqu'à obtenir une concentration en lipiodol égale à 20 % V/V . La suspension de nanocapsules ainsi préparée est répartie dans des flacons type pénicilliné. Les flacons sont fermés avec des bouchons de caoutchouc sertis d'une bague d'aluminium.

Les nanocapsules ainsi préparées sont stérilisées à l'autoclave à 120 °C pendant 15 minutes .

Une partie des flacons est maintenu à la température ambiante, la taille moyenne des nanocapsules (256 nm) n' a pas changé après 6 mois de conservation .

Exemple 5

On procède comme décrit dans l'exemple 4, mais on diminue la quantité de surfactif . On utilise 1 g de Pluronic F 68 solubilisé dans 200 ml d'eau déminéralisée . On étudie la stabilité de ces nanocapsules à la température ambiante, et à 50 °C . L'étude montre que les nanocapsules sont très stables dans les deux condition .

Exemple 6

On procède comme décrit dans l'exemple 1, mais on utilise 4 ml de Labrafil M 1944 (Glycérides oléiques polyoxyéthylénés) et on polymérisé dans 50 ml d'eau déminéralisée en présence de 0,5 % de Pluronic F 68. On obtient des nanocapsules d'un diamètre moyen de l'ordre de 260 nm . les nanocapsules au microscope électronique ont l'aspect habituel .

Exemple 7

On procède comme décrit dans l'exemple 6, mais on utilise 4 ml d'huile d'oeillette neutralisée. L'huile n'est pas soluble dans l'éthanol absolu mais en présence du monomère elle forme une dispersion micellaire par simple agitation magnétique.

On obtient avec cette huile des nanocapsules ayant un diamètre moyen de l'ordre de 250 nm.

Au microscope électronique l'aspect morphologique est celui habituel.

Exemple 8

On procède comme décrit dans l'exemple 6, mais on utilise 4 ml de Miglyol 812 -huile neutre formée d'un mélange de triglycérides d'acide gras saturés et fractionnés de coco à longueur de chaîne C8- C10. La taille moyenne des nanocapsules obtenues après concentration jusqu'à 20% V/V est de 261 nm.

Exemple 9

On procède comme décrit dans l'exemple 6, mais on utilise 4 ml d'un parfum, 1'huile de Bouquet 4- 5312 et on polymérisé dans 200 ml d'eau déminéralisée à 0,5% de Pluronic F68 . La taille moyenne des nanocapsules est de 221 nm,directement après la réaction,et sans concentration.

La suspension de nanocapsules peut être facilement diluée sans modification des caractéristiques des nanocapsules . Après application l'odeur persiste plus longtemps qu'avec le produit non encapsulé.

Exemple 10

On procède comme décrit dans l'exemple 6, mais on utilise 4 ml d'huile de Ricin, et on polymérisé dans 100 ml d'eau déminéralisée en présence de 0,5% de Pluronic F68. La taille moyenne des nanocapsules après concentration à 20% V/V est de 217 nm.

Exemple 11

On procède comme décrit dans l'exemple 10, mais on utilise 4 ml d'huile d'arachide, qui est insoluble dans l'éthanol absolu. On obtient des nanocapsules ayant une taille moyenne de 261 nm.

Exemple 12

On procède comme décrit dans l'exemple 10, mais on utilise 4 ml d'huile de Niaouli. La taille moyenne des nanocapsules obtenue est de 186 nm.

Exemple 13

On dissout 200 mg de lomustine (C.C.N.U) et 1 ml de Miglyol 812 et 0,5 ml d'isobutyl- 2 cyanoacrylate dans 50 ml d'éthanol absolu. On polymérisé dans 100 ml d'eau déminéralisée en présence de 0,5 de Pluronic F68. On obtient des nanocapsules d'une taille moyenne de l'ordre de 184 nm,après concentration jusqu'à 20 ml.

Après 24 h, on observe des cristaux de (C.C.N.U) sur la parois des flacons .

Exemple 14

On procède comme décrit dans l'exemple 13, mais on utilise 2 ml de 5 Miglyol, et on polymérise dans 100 ml d'eau déminéralisée en présence de 1% de Pluronic F 68, on obtient des nanocapsules de diamètre moyen égal à 201 nm, après concentration jusqu'à 20 ml. Les nanocapsules obtenues sont réparties dans des flacons type pénicilliné, aucune cristallisation de (C.C.N.U) ne se produit. Les flacons sont conservés à température ambiante. Les nanocapsules ainsi conservées subissent un contrôle identique tous les 10 jours, Le (C.C.N.U) est dosé dans le filtrat après filtration à travers une membrane millipore dont les diamètres des pores est égale à 50 nm sous pression. Le (C.C.N.U) total est également dosé dans la suspension des nanocapsules, et la taille est mesurée au Nano-Sizer. Le dosage du 10 (C.C.N.U) est effectué en U.V à 230 nm. Il montre que 100% de la quantité mise en oeuvre sont encapsulés. Il montre aussi que le (C.C.N.U) encapsulé est resté intact après 40 jours de conservation à la date d'écriture de ce brevet. La taille des nanocapsules reste également inchangée .

L'examen au microscope électronique après double coloration des 20 nanocapsules met en évidence la présence d'une enveloppe entourant totalement le produit encapsulé. L'épaisseur de l'enveloppe est estimée à environ 6 nm.

Exemple 15

On procède comme décrit dans l'exemple 13, mais sans support huileuse (sans Miglyol). La majeure partie du (C.C.N.U) cristallise et reste sur le 25 filtre (9-15 micromètre). Le filtrat présente le reflet bleuté très caractéristique des solution colloïdales. On obtient cette fois des nanoparticules et non des nanocapsules. La taille moyenne au Nano-Sizer est de 110 nm . Le taux de fixation est très faible .

Exemple 16

30 On dissout 200 mg de progestérone, 2 ml de Miglyol et 0,5 ml d'isobutyl-2 cyanoacrylate, dans 50 ml d'éthanol absolu. On polymérise dans 100 ml d'eau déminéralisée en présence de 1% de Pluronic F 68. On obtient des nanocapsules de diamètre moyen égal à 220 nm .

Le dosage de la progestérone en U.V à 241 nm dans le filtrat (millipore 35 50 nm) et de la progestérone totale montre que le taux d'encapsulation est égal à 100 % .

Exemple 17

On procède comme décrit dans l'exemple 16, mais sans Miglyol . On obtient des nanoparticules d'une taille moyenne de 83 nm . Le taux d'adsorption est inférieur à 1 % .

Exemple 18

On dissout 2 ml de Miglyol et 0,5 ml d'isobutyl- 2 cyanoacrylate dans 50 ml d'éthanol absolu. On dissout 200 mg d'éosine (substance très soluble dans l'eau et dans l'éthanol absolu) dans 100 ml d'eau déminéralisée en présence de 1 % de Pluronic F 68. On injecte la solution alcoolique dans la phase aqueuse. On obtient des nanocapsules d'une taille moyenne égale à 230 nm . Lors d'une filtration à travers une membrane Millipore(50 nm) . Une partie du colorant est fixée par les nanocapsules,alors que l'autre partie passe avec le filtrat. La partie fixée resiste à un lavage par l'eau .
5

REVENDICATIONS

1. Nanocapsules biodégradables formées d'une enveloppe résultant de la polymérisation d'un cyanoacrylat d'alkyle et d'une cavité centrale contenant une solution ou une suspension huileuse d'une substance biologiquement active.
- 5 2. Nanocapsules biodégradables suivant la revendication 1, caractérisées en ce que leur diamètre est inférieur à 1 micromètre .
3. Procédé de fabrication des nanocapsules définies selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il consiste:
 - a) à dissoudre dans un solvant approprié, l'éthanol absolu ou tout autre solvant pouvant jouer le même rôle, un produit huileuse avec ou sans substance biologiquement active, et un cyanoacrylate d'alkyle .
 - 10 b) à former des nanocapsules en injectant la solution précédente dans l'eau déminéralisée ou distillée contenant ou non un surfactif non ionique.
 - c) si nécessaire, à éliminer le solvant et à concentrer la suspension des nanocapsules .
- 15 4. Procédé de fabrication de nanoparticules(nanosphères) biodégradables formées d'un réseau polymérique plus ou moins dense et contenant une substance biologiquement active caractérisé en ce qu'il consiste:
 - a) à dissoudre dans un solvant approprié (éthanol absolu ou tout autre solvant pouvant jouer le même rôle) une substance biologiquement active et un cyanoacrylate d'alkyle .
 - 20 b) à former des nanoparticules en injectant la solution précédente dans l'eau déminéralisée ou déminéralisée distillée contenant ou non un surfactif non ionique .
 - 25 c) si nécessaire, à éliminer le solvant et à concentrer la suspension de nanoparticules .
- * 5. Nanocapsules ou nanoparticules biodégradables suivant l'une des revendications 1 à 4, caractérisées en ce que la substance biologiquement active est un produit doué de propriétés antimitotique, antinéoplasique, antibiotique ou hormonale, un virus, un constituant de virus, de bactérie ou de cellule, un antigène, un allergène ou une enzyme ou un produit pour le diagnostic .
- 30 6. Nanocapsules ou nanoparticules biodégradables suivant l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisées en ce que la substance active encapsulée est le lipiodol ultra-fluide, produit radiopaque à 48% g d'iode/100ml.
- 35 7. Nanocapsules ou nanoparticules biodégradables suivant l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisées en ce que la substance active encapsulée est la lomustine(C.C.N.U), ou la progestérone ou l'insuline .
- 40 8. Nanocapsules ou nanoparticules biodégradables suivant l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisées en ce que la substance

biologiquement active , au moment de la préparation peut être dissoute ou mise en suspension dans la phase alcoolique ou aqueuse .

9. Composition pharmaceutique contenant des nanocapsules ou des nanoparticules biodégradables suivant l'une quelconque des revendications
5 1 à 8, avec un excipient pour l'administration orale, sous-cutanée,
intradermique, intramusculaire ou intraveineuse .