



Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



⑫ PATENTSCHRIFT A5

11

628 067

②① Gesuchsnummer: 2188/81

⑥² Teilgesuch von: 8644/76

②② Anmeldungsdatum: 06.07.1976

③⑩ Priorität(en): 07.07.1975 US 593903

②④ Patent erteilt: 15.02.1982

④ Patentschrift
veröffentlicht: 15.02.1982

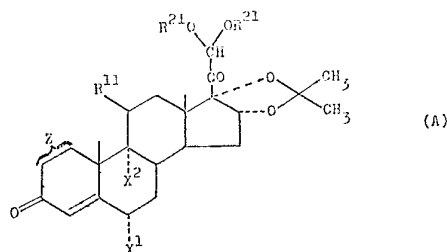
⑦³ Inhaber:
Syntex (U.S.A.) Inc., Palo Alto/CA (US)

72 Erfinder:
Michael Marx, Sunnyvale/CA (US)
Denis John Kertesz, Menlo Park/CA (US)

⑦4 Vertreter:
A. Braun, Braun, Hérítier, Eschmann AG,
Patentanwälte, Basel

54) Verfahren zur Herstellung neuer 21-Acetale von Steroid-21-aldehyden.

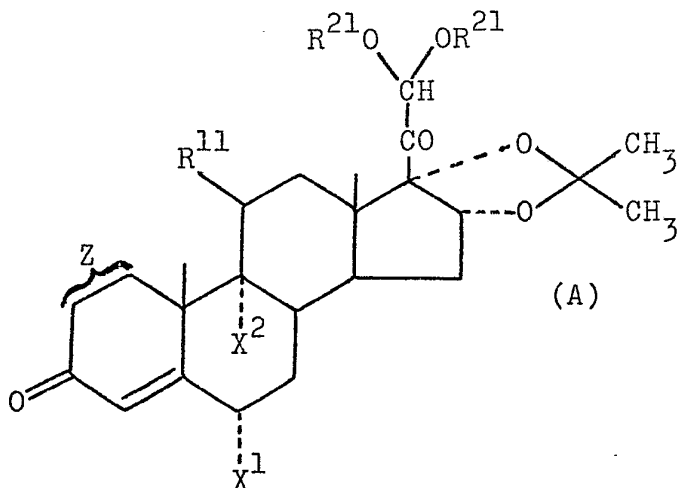
⑤⑦ Verbindungen der Formel:



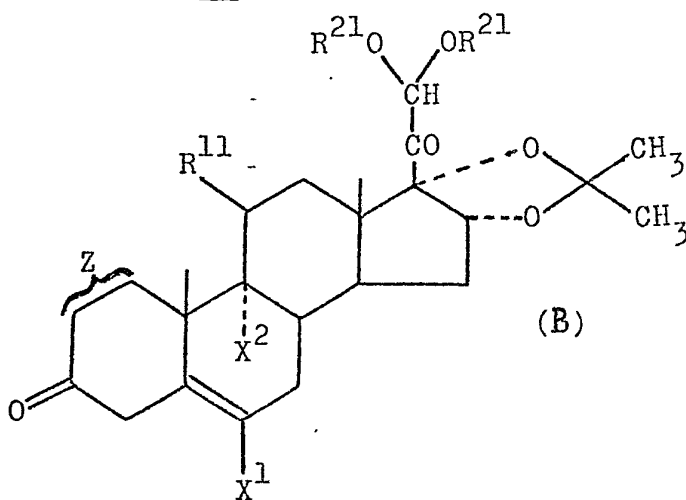
werden aus entsprechenden 3-Oxo-5-en-Verbindungen durch Behandlung mit einer Base hergestellt; die Symbole haben die in Anspruch 1 genannten Bedeutungen. Die Verbindungen entfalten beim Mensch eine hohe lokale antiinflammatorische Wirkung bei unbedeutender systemischer Aktivität; sie können zur Behandlung von entzündlichen Störungen verwendet werden.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel



in welcher R^{11} Chlor oder Hydroxyl bedeutet, beide R^{21} dasselbe Alkyl mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen darstellen, Z eine Einfachbindung oder eine Doppelbindung bedeutet, X^1 und X^2 , die gleich oder verschieden sind, Wasserstoff, Chlor oder Fluor bedeuten, wobei X^1 nur Chlor oder Fluor bedeutet, wenn Z eine Doppelbindung darstellt, ferner X^2 Chlor darstellt, wenn R^{11} Chlor ist, dadurch gekennzeichnet, dass man ein entsprechendes 3-Oxo-5-en-21-acetal der Formel



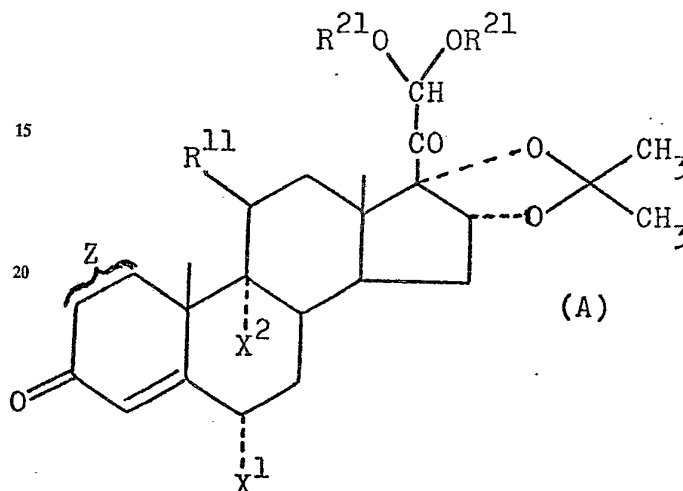
mit einer Base behandelt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass als Base Natriumhydroxyd, Kaliumhydroxyd oder Ammoniumhydroxyd verwendet wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 zur Herstellung von
 $6\alpha,9\alpha$ -Difluor- $11\beta,16\alpha,17\alpha,21,21$ -pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther,
 6α -Fluor- $11\beta,16\alpha,17\alpha,21,21$ -pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther,
 $6\alpha,9\alpha$ -Difluor- $11\beta,16\alpha,17\alpha,21,21$ -pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther,
 6α -Fluor- $11\beta,16\alpha,17\alpha,21,21$ -pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther,
 $9\alpha,11\beta$ -Dichlor- 6α -fluor- $16\alpha,17\alpha,21,21$ -tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther,
 $11\beta,16\alpha,17\alpha,21,21$ -Pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther,
 6α -Chlor- $11\beta,16\alpha,17\alpha,21,21$ -pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther,

$6\alpha,9\alpha$ -Difluor- $11\beta,16\alpha,17\alpha,21,21$ -pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-äthyläther oder
 $6\alpha,9\alpha$ -Difluor- $11\beta,16\alpha,17\alpha,21,21$ -pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-propyläther.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung neuer Verbindungen der Formel



in welcher R^{11} Chlor oder Hydroxyl bedeutet, beide R^{21} dasselbe Alkyl mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen darstellen, Z eine Einfachbindung oder eine Doppelbindung bedeutet, X^1 und X^2 , die gleich oder verschieden sind, Wasserstoff, Chlor oder Fluor bedeuten, wobei X^1 nur Chlor oder Fluor bedeutet, wenn Z eine Doppelbindung darstellt, ferner X^2 Chlor darstellt, wenn R^{11} Chlor ist.

Von diesen Verbindungen werden die 21,21-Bis-methyläther bevorzugt.

Die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen sind hochwirksame topische antientzündliche Mittel. Obgleich diese Verbindungen bei Ratten eine geringe systemische Aktivität zeigen, wenn diese mittels Standardtests bestimmt wird, z. B. mit Hilfe des Rat Thymolytic Assay und der Prüfung auf antiinflammatorische Wirkung bei dem durch Carrageen erzeugten Rattenpfotenödem, zeigen sie eine hohe topische Aktivität beim Menschen, bestimmt mit Hilfe des Stoughton-McKenzie Assay (Human Vasoconstrictor Assay). Trotz der Tatsache, dass bei langer Verabreichung der vorliegenden Verbindungen in grossen Dosen systemische Wirkungen, wie Nebennierenatrophie, Mineralcorticoideffekte und Collagenstörungen auftreten können, erlaubt das günstige Verhältnis von topischer zu systemischer Aktivität die Verwendung der Verbindungen in so geringen Dosen, dass diese systemischen Effekte auf den Mindestwert herabgesetzt werden. Diese Kombination von hoher topischer antientzündlicher Aktivität und vernachlässigbarer systemischer Aktivität macht die vorliegenden Verbindungen äusserst geeignet für die Linderung von entzündlichen Störungen. Zu diesem Zweck wird eine wirksame Menge einer Verbindung der Formel A oder ein pharmazeutisches Präparat, das eine solche Verbindung als Wirkstoff enthält, verabreicht.

Die Verabreichung erfolgt vorzugsweise in der Form pharmazeutischer Präparate, die für die Behandlung von entzündlichen Störungen brauchbar sind. Diese Präparate enthalten eine wirksame Menge einer Verbindung der Formel A im Gemisch mit einem pharmazeutisch unbedenklichen, nicht toxischen Träger.

Geeignete Träger oder Arzneimittelgrundlagen für die topische Anwendung der neuen Steroide sind Crèmes, Salben, Lotionen, Emulsionen, Lösungen und dergleichen. Z. B. enthält eine geeignete Salbe für die topische Anwendung der Verbindun-

gen 15 bis 45 Gew.-% eines gesättigten Fettalkohols mit 16 bis 24 Kohlenstoffatomen, wie Cetylalkohol, Stearylalkohol, Behenylalkohol und dergleichen, und 45 bis 85 Gew.-% eines Glycölmittels, wie Propylenglycol, Polyäthylenglycol, Dipropylenglycol und deren Mischungen. Die Salbe kann auch 0 bis 15 Gew.-% eines Weichmachers, wie Polyäthylenglycol, 1,2,6-Hexantriol, Sorbit, Glycerin und dergleichen, 0 bis 15 Gew.-% eines Kupplungsmittels, wie einer gesättigten Fettsäure mit 16 bis 24 Kohlenstoffatomen, z. B. Stearinsäure, Palmitinsäure, Behensäure, eines Fettsäureamids, z. B. Ölsäureamid, Palmitinsäureamid, Stearinsäureamid, Behensäureamid, oder eines Esters einer Fettsäure mit 16 bis 24 Kohlenstoffatomen, wie Sorbitmonostearat, Polyäthylenglycolmonostearat, Polypropylenglycolmonostearat, oder des entsprechenden Monoesters anderer Fettsäuren, wie Ölsäure und Palmitinsäure, und 0 bis 20 Gew.-% eines Eindringmittels, wie Dimethylsulfoxid, Dimethylacetamid, Dimethylformamid und dergleichen, enthalten.

Die Konzentration von Nebennierenrindensteroiden in pharmazeutischen Präparaten, die sich für die topische Anwendung eignen, hängt von der speziellen Aktivität des verwendeten

Steroides im Zusammenhang mit dem zu behandelnden Zustand und Patienten ab. Im allgemeinen werden vorteilhaft topische Präparate verwendet, die 0,005 bis 1 Gew.-% des aktiven Steroides enthalten.

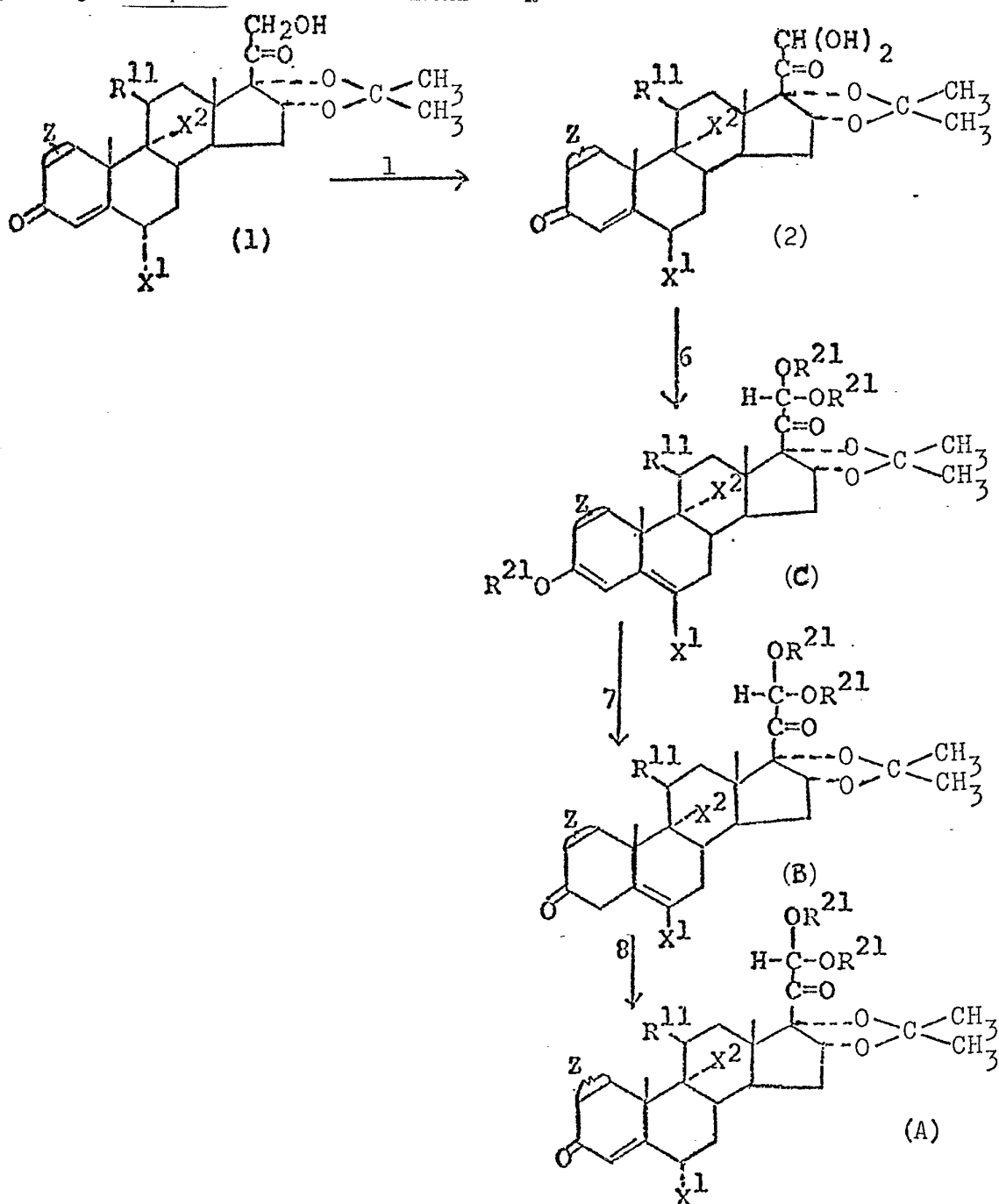
In der Beschreibung und den Ansprüchen gelten die folgenden Definitionen:

Die in den Formeln verwendeten unterbrochenen Linien bedeuten, dass die an die betreffenden Stellungen gebundenen Substituenten in der α -Konfiguration vorliegen.

Die in den Formeln verwendeten ununterbrochenen Linien bedeuten, dass die an die betreffenden Stellungen gebundenen Substituenten in der β -Konfiguration vorliegen.

Der Ausdruck Alkyl mit 1 bis 8 Kohlenstoffatomen schließt alle Isomeren ein. Typische solche Alkylgruppen sind Methyl, Äthyl, n-Propyl, Isopropyl, n-Butyl, sek.-Butyl, n-Amyl, n-Hexyl, n-Heptyl, n-Octyl usw.

Das folgende Reaktionsschema veranschaulicht eine bevorzugte Methode zur Herstellung der Ausgangsprodukte (Stufen 1, 6 und 7) und das erfindungsgemäße Verfahren.



In den obigen Formeln haben R^{11} , R^{21} , X^1 , X^2 und Z die obigen Bedeutungen.

Das Ausgangsprodukt der Formel B kann mit Vorteil folgendermassen hergestellt werden.

Zunächst wird ein 21-Hydroxysteroid der Formel I in Gegenwart eines Kupfer(II)-Katalysators, wie Cupriacetat, mit Luft in Berührung gebracht, um das 21-Aldehydhydrat der Formel 2 herzustellen. Die Reaktion wird vorzugsweise 30 Minuten bis 6 Stunden lang bei einer Temperatur von 5 bis 30°C in Methanol ausgeführt.

Der erhaltene 21-Aldehydhydrat der Formel 2 wird mit einem Orthoameisensäuretrialkylester, wie Orthoameisensäuretriäthylester, Orthoameisensäuretrimethylester, Orthoameisensäuretri-n-propylester und dergleichen in Gegenwart einer starken Säure, wie Perchlorsäure, p-Toluolsulfonsäure, Schwefelsäure und dergleichen, behandelt, um das 3-Alkoxy-3,5-dien-21-acetal der Formel B herzustellen. Die Reaktion wird in Gegenwart eines Alkanols, das dem verwendeten Orthoameisensäuretrialkylester entspricht, bei einer Temperatur von 50 bis 100°C 2 bis 12 Stunden lang ausgeführt.

Die Behandlung der so erhaltenen 3-Alkoxyverbindung der Formel C mit einer verdünnten organischen Säure, wie Salzsäure, Schwefelsäure und dergleichen, liefert das 3-Oxo-5-en-21-acetal der Formel B. Diese Reaktion wird vorzugsweise 30 Minuten bis 4 Stunden lang bei einer Temperatur von 50 bis 80°C in wässrigem Aceton ausgeführt.

Gemäss der Erfindung wird danach das 3-Oxo-5-en-21-acetal der Formel B mit einer Base, wie Natriumhydroxyd, Kaliumhydroxyd, Ammoniumhydroxyd und dergleichen, behandelt, um das 3-Oxo-4-en-21-acetal der Formel A herzustellen. Diese Reaktion wird vorzugsweise 30 Minuten bis 4 Stunden lang bei einer Temperatur von 30 bis 60°C in einem Lösungsmittel, wie Methylenchlorid und Methanol, wässriges Aceton oder Methanol, ausgeführt.

Die zur Herstellung der Ausgangsprodukte der Formel B verwendeten 21-Hydroxysteroiden der Formel 1 sind im Handel erhältlich oder können nach bekannten Verfahren hergestellt werden. Informationen bezüglich der Herstellung von 21-Hydroxysteroiden, die für die Verwendung bei der Herstellung von Verbindungen der Formeln A, B und C geeignet sind, finden sich z. B. in den USA-Patenten 3 048 581 und 3 126 375 sowie bei Fried et al., J. Am. Chem. Soc. 80, 2338 (1958) und Mills et al., J. Am. Chem. Soc. 82, 3399 (1960). Weitere Informationen bezüglich der Herstellung von 21-Hydroxysteroiden, die sich für die Verwendung bei der Herstellung von Verbindungen der Formel A eignen, finden sich z. B. in den USA-Patenten 2 894 963, 3 013 033 und 3 119 784 sowie bei Edwards et al., Proc. Chem. Soc. (London), 87 (1959), Edwards et al., J. Am. Chem. Soc. 82, 2318 (1960) und Taub et al., J. Am. Chem. Soc. 80, 4435 (1958).

Die folgende Beschreibung von spezifischen Ausführungsformen der Erfindung soll es dem Fachmann ermöglichen, die Erfindung besser zu verstehen und in der Praxis auszuführen.

Herstellung der Ausgangsprodukte

a) 6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid

Eine Aufschlammung von 12,0 g 6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid in 130 ml trockenem Methanol wird mit einer Lösung von 0,68 g Cupriacetat in 40 ml Methanol versetzt. Dann wird 2 Stunden lang Luft durch das Gemisch geleitet. Danach wird das Gemisch zur Trockene eingedampft und der Rückstand in Äthylacetat aufgenommen und mit Wasser, dann mit einer verdünnten wässrigen Kaliumbicarbonatlösung und danach wiederum mit Wasser gewaschen. Die Lösung wird zur Trockene eingedampft und der resultierende Rückstand dann in Aceton gelöst. Die Acetonlösung wird mit einer wesentlichen Menge Wasser verdünnt,

worauf der resultierende Niederschlag abfiltriert und im Vakuum getrocknet wird, wobei man 6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid erhält.

b) 6 α ,9 α -Difluor-3,11 β ,16 α ,17 α ,21,21-hexahydroxypregna-1,3,5-trien-20-on-16,17-acetonid-3,21,21-tris-methyläther
300 mg 6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid werden in einer Mischung von 8 ml Orthoameisensäuretrimethylester und 2 ml Methanol gelöst. Dann wird das so erhaltene Gemisch mit 2 Tropfen konz. Perchlorsäure versetzt und in einer Stickstoffatmosphäre auf 50°C erwärmt. Nach 2 Stunden wird das Reaktionsgemisch mit Äthylacetat verdünnt, mit Wasser solange gewaschen, bis es neutral ist, dann über Natriumsulfat getrocknet und schliesslich zur Trockene eingedampft. Auf diese Weise erhält man die im Titel genannte Verbindung vom Schmelzpunkt 168 bis 176°C.

c) 6,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,5-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther
30 mg des nach den obigen Angaben erhaltenen, rohen Triens werden in 5 ml Aceton und 2 ml Wasser gelöst, worauf diese Lösung mit 1 Tropfen konz. Salzsäure versetzt wird. Nach dem Erhitzen des Reaktionsgemisches in einer Stickstoffatmosphäre während 30 Minuten unter Rückfluss versetzt man das Reaktionsgemisch mit Wasser und entfernt dann das Aceton durch Destillieren. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet, wobei man die im Titel genannte Verbindung vom Schmelzpunkt 267 bis 270°C erhält.

Beispiel 1

6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther

100 mg des nach den obigen Angaben erhaltenen, rohen 1,5-Diens werden in 15 ml einer Mischung von Methylenchlorid und Methanol (Mischungsverhältnis 2:1) gelöst, worauf diese Lösung mit 1 Tropfen einer wässrigen 3n-Natriumhydroxydlösung versetzt wird. Nach dem Stehenlassen während 15 Minuten bei Zimmertemperatur wird das Reaktionsgemisch mit Äthylacetat verdünnt. Die organische Phase wird hierauf abgetrennt, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Produkt wird aus einer Mischung von Äthanol und Methylenchlorid umkristallisiert, wobei man die im Titel genannte Verbindung erhält.

Wiederholt man die obigen Massnahmen, jedoch unter Verwendung von anderen Orthoameisensäurealkylestern als der im obigen Absatz b) verwendete Orthoameisensäuretrimethylester, d. h. verwendet man beispielsweise Orthoameisensäuretriäthylester, Orthoameisensäuretri-n-propylester, Orthoameisensäuretri-n-butylester usw., so erhält man die entsprechenden 1,4-Dien-3,20-dion-21,21-bis-alkyläthersterioide, z. B. 6,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-äthyläther, 6,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-propyläther, 6,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-butyläther usw.

Beispiel 2

Man arbeitet in ähnlicher Weise, wie dies im Beispiel 1 beschrieben worden ist, wobei man je nach Fall bestimmte 21-Acetale verwendet. Dabei kann man zu den folgenden Verbindungen gelangen:

6 α -Fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther, Schmelzpunkt 297 bis 299°C.

6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther, Schmelzpunkt 246 bis 250°C,
 6 α -Fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther, Schmelzpunkt 270 bis 273°C,
 9 α ,11 β -Dichlor-6 α -fluor-16 α ,17 α ,21,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther, Schmelzpunkt 179 bis 181°C,
 9 α -Chlor-6 α -fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther, 11 β ,16 α ,17 α ,21,21-Pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther, Schmelzpunkt 250 bis 253°C,
 6 α -Chlor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-methyläther,
 6 α -Fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-äthyläther,
 6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-äthyläther,
 6 α -Fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-äthyläther,
 9 α ,11 β -Dichlor-6 α -fluor-16 α ,17 α ,21,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-äthyläther,
 9 α -Chlor-6 α -fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-äthyläther,
 11 β ,16 α ,17 α ,21,21-Pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-äthyläther, Schmelzpunkt 224 bis 227°C,
 6 α -Chlor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-äthyläther,
 6 α -Fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-propyläther,
 6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-propyläther,
 6 α -Fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-propyläther,
 9 α ,11 β -Dichlor-6 α -fluor-16 α ,17 α ,21,21-Tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-propyläther,
 9 α -Chlor-6 α -fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-propyläther,
 6 α ,9 α -Difluor-11 β ,17 α ,21,21-tetrahydroxy-16 α -methylpregna-1,4-dien-3,20-dion-17-acetat-21,21-bis-n-propyläther,
 11 β ,16 α ,17 α ,21,21-Pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-propyläther,
 6 α -Chlor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-propyläther,
 6 α -Fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-amylläther,

6 α -Fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-hexyläther,
 9 α -Chlor-6 α -fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-octyläther,
 9 α -Fluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-butyläther,
 11 β ,16 α ,17 α ,21,21-Pentahydroxypregn-4-en-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-bis-n-octyläther.

Die topische antientzündliche Aktivität von bestimmten Verbindungen der Formel A wurde mit Hilfe des Stoughton McKenzie Assay (Human Vasoconstrictor Assay) bei erwachsenen Freiwilligen bestimmt, die keinerlei Steroide erhielten und während der letzten vier Wochen vor dem Test nicht an einer Untersuchung unter Verwendung von Steroiden teilgenommen hatten.

Zwei Lösungen jeder Testverbindung wurden unmittelbar vor der Anwendung hergestellt, indem man je 5 ml Äthanol in zwei Glasfläschchen gab, die 0,05 mg bzw. 0,005 mg Testverbindung pro Fläschchen enthielten. Die Unterarme der Versuchspersonen wurden dann mit den Umrissen eines mit Silikonfett überzogenen Gummigitters versehen. 10 Mikroliter (10 μ l) jeder Lösung wurden dann nach einem genormten Blatt zur Erzielung einer zufallsgemässen Verteilung auf die bezeichneten Quadrate aufgebracht. Darauf liess man die Unterarme der Versuchspersonen trocknen und bedeckte sie dann mit Saran und dichtete die Ränder mit Klebstreifen ab.

Die Okklusionszeit betrug 18 Stunden. Die Ablesungen der Gefässverengung wurden 24 Stunden nach der Aufbringung vorgenommen.

Die Fähigkeit der Testverbindung zur Verursachung von Gefässverengung, bezogen auf den Vergleichsstandard (Fluocinoloneacetonid) wird durch die folgenden Resultate erläutert:

Verbindung	Potenz
Fluocinoloneacetonid (d. h. 6 α ,9 α -Difluor-16 α -hydroxyprednisolon-16,17-acetonid)	1,0
6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-diäthyläther	1,2
6 α ,9 α -Difluor-11 β ,16 α ,17 α ,21,21-pentahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion-16,17-acetonid-21,21-dimethyläther	1,5