原 著

新合成抗真菌剤 Hoe 296 の抗菌作用

第 1 報 試験管内抗菌作用と実験的白癬菌感染に対する治療効果

櫻 井 京 子* 坂 口 孝*

ヘキスト・ジャパン (株) 医薬品研究所

山 口 英 世** 岩 田 和 夫**

東京大学医学部細菌学教室

緒 言

ヘキスト研究所 (西独) で開発された化学合成抗真菌剤 Hoe 296 は, Dittmar と Lohaus¹⁾ によつて最初に記載されたように, 化学名は, 6-cyclohexyl-1-hydroxy-4-methyl-2 (1H) -pyridone ethanolamine salt で, 1-hydroxy-2-pyridone の誘導体中, 抗真菌活性が最も高い物質である (Fig. 1). かれらは, 本薬剤が *in vitro* で多種の病

Fig. 1 Structure of Hoe 296

原真菌に対し, 強い抗菌作用を有するのみならず, 諸種の細菌に対しても抗菌活性を示すこと, また, *in vivo* ではモルモットの実験的 *Microsporum canis* 感染に対して, その局所適用が優れた効果を発揮するという。

表在性真菌症に対する化学療法は, griseofulvin の出現により画期的進歩をみたとはいえ, 本抗生物質は副作用と再発もしくは再感染を比較のおこしやすいゆえに,

Kyoko SAKURAI*, Takashi SAKAGUCHI*, Hideyo YAMAGUCHI** and Kazuo IWATA**: Antimicrobial Activity of Hoe 296, a New Synthetic Antifungal Agent. I. In Vitro Antimicrobial Activity and Curative Effect against Experimental *Trichophyton mentagrophytes* Infection, from *Pharmaceutical Laboratory, Hoechst Japan Ltd. Saitama, and **Department of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

その適用がある程度制約を余儀なくされるに至つており, それに代わるべき毒性が低く, 抗菌活性のより優れた抗真菌剤の発見が待望されている今日, 化学合成抗真菌剤として新しく登場したこの Hoe 296 について, われわれは, その抗菌作用を多角的に研究することを企図した。

本論文においては, まず, 本物質の試験管内抗菌作用とそれにおよぼす諸因子の影響, さらに皮膚糸状菌の実験的感染に対する治療効果について検討した成績を報告する。

材料と方法

薬剤: Hoe 296 は HOECHST AG. より分与された精製標品を用いた。

菌株: 真菌は大多数病原菌と少数の非病原菌, 細菌はほとんど病原菌を用いた。 *Nocardia* 属については一応真菌のなかで記載した。これらの菌株は保存株および新鮮分離株よりなるが, とくに区別して記載しなかつた (結果的にみて両者間にはとくに認むべき差異がなかつた理由による)。感染治療実験には *Trichophyton mentagrophytes* T-5 株を用いた。

培地: MIC の測定には, 真菌では Sabourauds glucose broth を, 細菌では *Diplococcus*, *Streptococcus* および *Corynebacterium* に heart infusion agar (Difco) + 10% ヒト脱線維素血液を, *Clostridium* には thioglycollate agar (栄研) を, *Mycobacterium* に Tween-albumin 液体培地 (栄研) および 1% 小川培地を, 他はすべて heart infusion broth (Difco) を用いた。前培養用の培地については, 各方法のところで記す。

実験動物：モルモット，Hartley 系，雄性，体重 350 ～ 620 g，1 群10匹ずつ2 群を使用した。

最小発育阻止濃度の測定：Hoe 296 を無水メタノールに溶解し，80mg/ml の濃度の溶液を原液として4℃に保存した。真菌に対するMICの測定には，Sabouraud's glucose broth で薬剤の2 倍段階希釈系列をつくり，全量5 ml とした。接種菌液は酵母類の場合 Sabouraud's glucose agar slant にて37℃，24時間培養の菌より Sabouraud's glucose broth で浮遊液を作った。糸状菌類では Sabouraud's glucose agar slant で27℃，一定期間（菌種により異なるが，最大発育に達するまで）培養し，その孢子を0.1% Tween 80加 Sabouraud's glucose broth に浮遊させた。各菌株について，血球計算板で1 ml あたり 5×10^5 個の浮遊液を調製して，その上記希釈系統に0.1ml ずつ接種した（菌液の最終濃度は 1×10^4 個/ml）。なお，これらの薬剤希釈系列および薬剤非添加の対照は各菌株につき，いずれも2 系列とした。ついで酵母および酵母様真菌は，37℃，48時間，その他の真菌は27℃，7 日間，いずれも静置培養し，完全発育阻止を示す最小濃度（ $\mu\text{g/ml}$ ）をもつて，Hoe 296のMICとした。細菌に対する本剤のMICの測定は，*Clostridium*，*Mycobacterium*，*Diplococcus*，*Corynebacterium*，および *Streptococcus* を除き，すべて heart infusion agar (pH 7.4) による寒天平板希釈法によった。所定の培養時間後の集落の発育の完全阻止最小濃度（ $\mu\text{g/ml}$ ）をもつてMICとした。上記5 菌種菌株以外の菌種に対するMICは，trypticase soy broth (BBL) で37℃，18時間培養後の菌液を1 白金耳ずつ，2 倍段階希釈系列の薬剤含有 heart infusion 寒天平板培地に画線塗抹し，37℃，18時間培養後に判定した。

Diplococcus，*Corynebacterium* および，*Streptococcus* の諸菌株に対するMICは，10%血液加 heart infusion agar slant で37℃，24時間培養の菌をかきとり，trypticase soy broth (BBL) に懸濁した菌液を1 白金耳ずつ，2 倍段階希釈系列の薬剤含有，血液寒天培地に画線塗抹し，37℃，18時間培養後に判定した。*Clostridium* 属に対しては，thioglycollate 培地に37℃，48時間培養後の菌液を1 白金耳ずつ同じ培地による薬剤希釈系列に接種し，同条件の培養の後に判定した。*Mycobacteria* 属は，Tween albumin 液体培地 (Dubos TB broth, 栄研) で37℃，2 週間培養し，その0.01ml ずつを薬剤希釈系列各5 ml に接種した。また別に1%小川培地の薬剤希釈系列に，上記接種菌液を1 白金耳ずつ画線塗抹した。MI

Cは各々37℃，2 週間および3 週間培養後に判定した。

抗菌作用におよぼす接種菌量，培養時間，pHおよび血清の影響に関する実験：*Candida albicans* c-a-30株を用い，Hoe 296の抗菌力におよぼす諸因子の影響をしらべた。培養時間の長短による抗菌力の影響については，本菌種のほか c-a-11，c-a-13，c-a-17，c-a-20の各株についても検討した。接種には，Sabouraud's glucose broth で37℃，24時間前培養の菌を用いた。

接種菌量は最終菌数で $10^3/\text{ml}$ ， $10^4/\text{ml}$ ， $10^5/\text{ml}$ ， $10^6/\text{ml}$ および $10^7/\text{ml}$ とした。

培養時間は *C. albicans* 5 株につき37℃，24時間，4 日および10日間培養し，各時間におけるMICを比較した。なお，この場合の接種菌量は最終菌数で $10^4/\text{ml}$ とした。

培地pHは Sabouraud's glucose broth のpHを4～9として比較した。pH 4，5はクエン酸緩衝液により，pH 6，7はリン酸緩衝液により，pH 8，9は Tris-HCl 系緩衝液によった。pHを異にする各系列(各5 ml)に 5×10^5 個/ml 菌液を0.1ml ずつ加え培養した。

血清は不活化したコウシン血清を用い，薬剤希釈系列に10%，25%および50%の割合に添加した。なおMIC測定の条件は上に同じ。

感染治療実験：Noguchi ら²⁾，Sakai ら³⁾の方法に準じ，各モルモットの背部の毛を電気バリカンで約20mm²の広さに適当な間隔を置いて左右各3カ所ずつ刈り，毛を抜き，さらに紙ヤスリを出血しない程度にこすつた後，*T. mentagrophytes* T-5 株の Sabouraud's glucose agar slant 27℃，3 週間培養の孢子を0.1% Tween 80加生理食塩水に浮遊させ， $10^7/\text{ml}$ の0.1ml を接種した。各群10匹ずつを用いた。菌接種後，2 日ないし4 日から Hoe 296の polyethylene glycol 400による0.5%，1%，2%溶液を菌接種部位各毎日1回，局所塗布を行ない，10日目まで続けた。対照として，Hoe 296を含まない polyethylene glycol 400塗布と0.1% thimerosal (60%エタノールに溶解)の2種とした。最終塗布の翌日，感染部位から組織小片(中央部約10mm²)をとり滅菌生理食塩水中でさつとホモジナイズした後，cycloheximide 0.5mg/ml，chloramphenicol 0.05mg/mlを含む Sabouraud's glucose agar plate 上に画線塗抹し，27℃，7 日間培養した。その培養成績は，各群動物総数のうちの，1つまたはそれ以上が陽性を示した動物数として表わした。病変の程度は鱗屑，痂皮，紅斑，被毛の発育の程度から Weinstein ら⁴⁾の記載に準じ，各所見の総数で

現われた所見の和の除数をもつて示した(1十〜4十)。

結 果

1. 試験管内抗菌力

諸種の病原ならびに非病原真菌に対する Hoe 296 の

Table 1 *In vitro* antifungal activity of Hoe 296

Organisms	Number of Strains Tested	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Candida albicans</i>	14	2.5—5.0
<i>Candida tropicalis</i>	4	5.0
<i>Candida pseudotropicalis</i>	3	5.0
<i>Candida krusei</i>	2	2.5—5.0
<i>Candida parakrusei</i>	2	2.5
<i>Candida stellatoidea</i>	1	2.5
<i>Candida guilliermondi</i>	2	2.5
<i>Candida catenulata</i>	1	2.5
<i>Candida macedoniensis</i>	1	2.5
<i>Candida melinii</i>	1	2.5
<i>Candida loxderi</i>	1	2.5
<i>Candida pelliculosa</i>	1	2.5
<i>Candida pulcher-rima</i>	1	2.5
<i>Candida robusta</i>	1	2.5
<i>Candida utilis</i>	1	5.0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	20	2.5—5.0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7	2.5—10.0
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	1	5.0
<i>Rhodotorula</i> sp.	1	2.5
<i>Torulopsis fumata</i>	1	10.0
<i>Torulopsis glabrata</i>	2	5.0—10.0
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	10	2.5—5.0
<i>Trichophyton rubrum</i>	3	2.5
<i>Trichophyton tonsurans</i>	1	2.5
<i>Trichophyton schoenleinii</i>	1	2.5
<i>Trichophyton violaceum</i>	1	5.0
<i>Trichophyton equinum</i>	1	2.5
<i>Trichophyton megninii</i>	1	2.5
<i>Microsporum audouinii</i>	3	2.5
<i>Microsporum gypseum</i>	5	2.5—5.0
<i>Microsporum canis</i>	5	2.5—5.0
<i>Epidermophyton floccosum</i>	4	2.5
<i>Sporotrichum schenckii</i>	3	2.5—5.0
<i>Hormodendrum pedrosoi</i>	2	2.5—5.0
<i>Phialophora verrucosa</i>	1	2.5
<i>Histoplasma capsulatum</i>	2	2.5—5.0
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	3	2.5
<i>Blastomyces brasiliensis</i>	2	2.5—5.0
<i>Penicillium notatum</i>	1	5.0
<i>Penicillium</i> sp.	1	5.0

<i>Aspergillus fumigatus</i>	3	5.0—10.0
<i>Aspergillus flavus</i>	1	20.0
<i>Aspergillus niger</i>	1	5.0
<i>Mucor</i> sp.	1	20.0
<i>Allescheria boydii</i>	2	10.0
<i>Monosporium apiospermum</i>	2	5.0—10.0
<i>Nocardia asteroides</i>	3	6.25
<i>Nocardia brasiliensis</i>	1	6.25
<i>Nocardia pelletieri</i>	1	6.25

試験管内の抗菌力は、Table 1 に示すとうりで、一様に強く、そのMICは大多数の真菌に対し 2.5~10 $\mu\text{g/ml}$ の範囲にあつた。すなわち、そのMICは、酵母様真菌に対し 2.5~0.0 $\mu\text{g/ml}$ 、酵母に対し 2.5~10 $\mu\text{g/ml}$ 、皮膚真菌および二相性真菌に対し 2.5~ 5.0 $\mu\text{g/ml}$ 、*Aspergillus*、*Mucor* には20 $\mu\text{g/ml}$ とやや高い菌株があり、*Nocardia* 属菌株はいずれも6.25 $\mu\text{g/ml}$ であつた。

本薬剤は、Table 2 に示すように、グラム陽性、陰性に無関係に多種の細菌に対しても、ある程度の抗菌力を有することが注目された。すなわち、大多数の細菌に対し、MICは25~ 200 $\mu\text{g/ml}$ の範囲であつた。ただし、*Mycobacterium* 属諸菌種に対しては、活性が弱く、100

Table 2 *In vitro* antibacterial activity of Hoe 296

Organisms	Number of Strains Tested	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	25
<i>Micrococcus lysodeikticus</i>	1	25
<i>Bacillus anthracis</i>	1	25
<i>Bacillus subtilis</i>	2	25—50
<i>Bacillus megaterium</i>	1	25
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	2	50—100
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	2	100
<i>Streptococcus hemolyticus</i>	4	100—200
<i>Streptococcus viridans</i>	1	50
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1	> 100—<1000
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1	> 100—<1000
<i>Mycobacterium bovis</i>	1	> 100—<1000
<i>Mycobacterium avium</i>	1	> 100—<1000
<i>Clostridium tetani</i>	1	200
<i>Clostridium perfringens</i>	1	200
<i>Escherichia coli</i>	7	25—50
<i>Shigella flexneri</i>	3	25
<i>Shigella sonnei</i>	1	50
<i>Salmonella enteritidis</i>	1	50

<i>Salmonella tiphimurium</i>	1	50
<i>Proteus vulgaris</i>	1	25
<i>Proteus mirabilis</i>	1	25
<i>Proteus</i> sp.	1	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	100
<i>Citrobacter</i> sp.	1	50
<i>Serratia marcescens</i>	2	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	50
<i>Providencia</i> sp.	1	50
<i>Enterobacter cloaca</i>	2	100
<i>Alcaligenes fecalis</i>	1	25

Table 3 Effect of inoculum sizes on *in vitro* activity of Hoe 296 against *C. albicans* c-a-30

Inoculum size (No. of cells/ml)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
10^3	2.5
10^4	5.0
10^5	5.0
10^6	5.0
10^7	20.0

$\mu\text{g/ml}$ では完全阻止をしえず, $1,000\mu\text{g/ml}$ で完全阻止を示した.

2. 抗菌作用におよぼす諸因子の影響

(1) 接種菌量

C. albicans c-a-30に対する Hoe 296の抗菌力におよぼす影響は, Table 3 にみるように, $10^6/\text{ml}$ 以下の接種菌量では認められなかった. しかし, それよりも大量 ($10^7/\text{ml}$) になると, MIC は若干上昇した.

(2) 培養時間

C. albicans に対する Hoe 296のMICは Table 4 に示すように, 菌接種4日後までは5株とも全く変わりなく, 10日後に1株だけ (c-a-11株) にわずかに上昇がみられた.

(3) 培地pH

本薬剤の抗菌力におよぼす培地pHの影響については *C. albicans* c-a-30についてpH 4~9の範囲で検討したが, Table 5に示すように, MICはpH 4~5の範囲では差がなく, pH 6~9では4~8倍上昇した. 培地自体のpHは, 48時間の実験期間中は, ほとんど不変であった.

(4) 血清

Table 4 Effect of incubation time on *in vitro* activity of Hoe 296 against *C. albicans*

Strains	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	24 hrs	4 days	10 days
c-a-11	2.5	2.5	5.0
c-a-13	2.5	2.5	2.5
c-a-17	5.0	5.0	5.0
c-a-20	2.5	2.5	2.5
c-a-30	2.5	2.5	2.5

Table 5 Effect of pH on *in vitro* activity of Hoe 296 against *C. albicans* c-a-30

pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	pH	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
4	1.25	7	5.0
5	1.25	8	10.0
6	5.0	9	10.0

Table 6 Effect of calf serum on *in vitro* activity of Hoe 296 against *C. albicans* c-a-30

Serum %	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Serum (%)	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
0	5.0	25	20.0
10	5.0	50	>20.0

コウシ血清10%では *C. albicans* c-a-30に対する Hoe 296の抗菌力は, 影響なく, 25%以上の添加により Table 6のように4倍, もしくはそれ以上に低下した.

3. モルモットの実験的 *Trichophyton mentagrophytes* 感染に対する治療効果

モルモットの実験的 *T. mentagrophytes* T-5 株感染に対する Hoe 296の治療実験の成果は, Table 7に示した. 実験Aは菌接種後4日より, 実験Bでは2日または3日より治療を開始した. 実験Aにみられるように, 無処置対照感染群は, すべて典型的な局所症状を実験期間中を通じて持続しており, 感染後11日目の感染巣の組織の培養は, すべて陽性であった. 基剤 (polyethylene glycol) のみの投与群では, 感染経過および培養成績ともに, 上記対照群とほぼ同様であった. これに対して同一基剤による Hoe 296の2%, 1%, および0.5%溶液では病変の改善, および菌培養の陰性化の点でともに

Table 7 *In vivo* activity of Hoe 296 against *Trichophyton mentagrophytes* infection in guinea pigs

Experiment	Treatment	Conc. (%)	Start of treatment day	Average of lesion scores			Animals yielding negative cultures number/total
				4 days	7 days	11 days	
A	Untreated			2.8	3.4	3.6	0/10
	Vehicle-treated		+4	2.8	3.4	3.1	0/10
	Hoe 296	2	+4	2.7	2.5	2.1	6/10
	Hoe 296	1	+4	2.5	2.2	2.0	4/10
	Hoe 296	0.5	+4	1.9	2.1	1.8	4/10
	Thimerosal	0.1	+4	2.4	3.4	3.1	2/10
B	Untreated					3.9	0/10
	Hoe 296	1	+ 2			1.4	6/10
	Hoe 296	1	+ 3			1.5	5/10

有効であり、特に高濃度において顕著であつた。また適応日数の長いほど、その効果が強められる傾向がみられた。0.1% thimerosal の適用は初期の段階では症状の改善に関し、Hoe 296にまさる所見を示したが、連続投与が奏効せず、逆培養でも陰性化するものがより少なかった。

菌接種後2日または3日より治療を開始した実験Bでは、症状の改善と菌の陰性化が、より顕著であつたことを示している。

考 察

Hoe 296の試験管内抗菌作用と、それにおよぼす諸因子の影響、さらに実験的真菌感染に対する治療効果に関し、すでに Dittmar と Lohaus¹⁾ が報告したように、本薬剤が優れた抗真菌作用を有することを著者らは上述の諸成績を通じて確認した。加えて、われわれは、各種の病原細菌についても抗菌作用を検討し、中等度の抗菌力を示すことを見出した。すなわち、本物質は、病原性の酵母、酵母様真菌、二相性真菌、皮膚真菌、*Nocardia* 属等の諸菌種、また、非病原性の真菌菌種に対してもほとんど非選択的に強い抗菌力を示すのみならず、病原細菌に対しても、真菌に対するよりは低いが、グラム陽性菌、陰性菌に無関係にやはり非選択的な活性を示し（ただし、抗酸菌に対する活性は弱い）、かくて、広域の抗菌スペクトルをもつ物質として注目に値する。なお、文献的比較によれば、その抗真菌作用は、amphotericin B や clotrimazole⁵⁾ のそれに匹敵する。

Hoe 296の抗菌活性は、いくつかの抗真菌剤や抗細菌剤で報告されているように⁶⁻⁹⁾ 培地への血清添加によつて影響を受けないわけではないが、その影響は少なく、高濃度に添加したときのみ、活性の低下がみられた。な

お本文中には省略したが、ウマの脱線維素血液の影響についても検討した結果、血清の場合と同様で、10%添加では抗菌力に変化を与えなかつた。接種菌量を大量にした場合、抗菌力への影響をある程度うけることは、本剤もその例外ではないが、一定量以下であればほとんど全く影響されない。

また、培養時間を長くして10日におよんでも、抗菌力はほぼ一定に維持されるところから、本薬剤は培地中で安定であること、また、共存する菌によつて不活化されないことを示唆している。培地のpHによる影響も少なく、酸性域では活性に全く変化をみないが、中性ないしアルカリ性のpH域でいくらか低下の傾向がある。

モルモットの実験的 *T. mentagrophytes* 感染に対し、polyethylene glycol 400による Hoe 296の 0.5~2% 溶液の連続局所投与は明らかに有効であつた。対照薬剤として用いた thimerosal にくらべても、より優れた治療効果を示したこと、さらに Dittmar と Lohaus¹⁾ の *M. canis* モルモット感染に対する顕著な治療効果を照らし合わせ、ヒトの表在性真菌感染症の治療に Hoe 296の適用は大きな期待を寄せ得よう。

Waitz と Moss¹⁰⁾ は tolnaftate 製剤の予防的効果を皮膚糸状菌感染後3時間より処置を開始することによつて典型的な感染の成立を予防しうることを示している。われわれの動物実験に関するデータも早期に治療を開始した方がより有効であつたことは、注目してよい。

要 約

合成抗真菌剤Hoe 296(6-cyclohexyl-2(1H)-1-hydroxy-4-methyl-pyridone ethanolamine salt) は *in vitro* で多種の病原真菌に対して広域抗菌スペクトルの強い活性を示すのみならず、多くのグラム陽性、陰性の細菌に対して

も、かなりの発育阻止作用を有する。すなわち、そのMICは大多数の真菌に対して2.5~10 μ g/mlの範囲であり、細菌に対して25~200 μ g/mlである。

本薬剤の*Candida albicans*に対する抗菌作用は、培地pHが酸性において上昇するが、血清、接種菌量、培養時間の影響は極めて軽度である。

モルモットの実験的*Trichophyton mentagrophytes*感染に対する本剤の局所適用は症状の改善と接種菌の陰性化傾向から有効性が確認された。

本論文の要旨は、第47回日本細菌学会総会（昭和49年4月3日京都；日本細菌学雑誌29(1)：235, 1974）において発表した。

文 献

- 1) Dittmar, W. and G. Lohaus: Hoe 296, a new antimycotic compound with a broad antimicrobial spectrum. *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)*, **23**, 670—674, 1973.
- 2) Noguchi, T., A. Kaji, Y. Igarashi, A. Shigematsu and K. Taniguchi: Antitrichophyton activity of naphthiomates. *Antimicrob. Ag. Chemother.* —1962, 259—267, 1963.
- 3) Sakai, S., T. Kada, G. Saito, N. Muraoka and Y. Takahashi: Studies on chemotherapy of *Trichophyton* infections I. Antifungal properties of halogen phenol esters. *J. Scient. Research Inst.*, **46**, 113—117, 1952.
- 4) Weinstein, M.J., E.M. Oden and E. Moss: Antifungal properties of tolnaftate in vitro and in vivo. *Antimicrob. Ag. Chemother.* —1964, 595—601, 1965.
- 5) Plempel, M., K. Bartmann, K.H. Büchel and E. Regel: Bay b 5097, a new orally applicable antifungal substance with broad-spectrum activity. *Antimicrob. Ag. Chemother.* —1969, 271—274, 1970.
- 6) Arai, M., K. Ishibashi and H. Okazaki: Siccanin, a new antifungal antibiotic I. In vitro studies. *Antimicrob. Ag. Chemother.* —1969, 247—252, 1970.
- 7) Moriguchi, I., S. Wada and T. Nishizawa: Protein bindings. III. Binding of sulfonamides to bovine serum albumin. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **16**, 601—605, 1968.
- 8) Scholtan, W. and J. Schmid: Die Bindung der Penicilline an die Eiweisskörper des Serums des Gewebes. *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)*, **12**, 741—750, 1962.
- 9) Tompsett, R., S. Shultz and W. McDermott: The relation of protein binding to the pharmacology and antibacterial activity of penicillin X,G, dehydro F, and K. *J. Bacteriol.*, **53**, 581—595, 1947.
- 10) Waitz, J.A. and E.L. Moss, Jr.: "Prophylactic" activity of tolnaftate in experimental *Trichophyton mentagrophytes* infections of guinea pigs. *Chemotherapy*, **14**, 170—175, 1969.