

Research Article

Open Access

석창포 추출물의 모기에 대한 기피활성

이승호,¹ 정진관,² 박상현,² 김문식,² 한연수,¹ 서정미,³ 김인선^{1*}

¹전남대학교 농업생명과학대학 친환경농업연구소, ²영일고등학교, ³광주광역시 보건환경연구원

Repellent Activity of the Extracts of *Acorus Gramineus* against Mosquito (*Culex pipiens pallens*)

Seung Ho Lee,¹ Jin Kwan Jung,² Sang Hyun Park,² Mun Sik Kim,² Yeon Soo Han,¹ Jung Mi Seo,³ and In Seon Kim^{1*} (Institute of Environmentally-friendly Agriculture, College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Republic of Korea, ²Youngil High School, Seoul 157-836, Republic of Korea, ³Gwangju Advanced Institute of Health and Environment, Gwangju 502-240, Republic of Korea)

Received: 8 February 2011 / Accepted: 16 March 2011

© The Korean Society of Environmental Agriculture

Abstract

BACKGROUND: *Acorus gramineus* is of medicinal plants that exhibit variable biological activities for human health and against insect pests. The extracts of *A. gramineus* was examined in an attempt to develop a natural repellent against human disease-mediating *Culex pipiens*.

METHODS AND RESULTS: The roots of *A. gramineus* dried under dark conditions were homogenized and extracted with ethanol. The extracts were subjected to repellent activity assays against *C. pipiens* in a hand-made acrylic box with three accessible rooms. Significantly low number of mosquitos was found in the room previously fumigated with the extracts at 50 mg/L on the filter paper, exhibiting less than 20% of mosquitos tested. More than 50% of mosquitos tested was found in the room without the extracts, but less than 30% was found in the room that released mosquitos. GC/MS analysis detected β -asarone as a main component of the extracts. The commercial asarones (α and β) showed a repellent activity at 50 mg/L on the filter paper similar to the extracts. **CONCLUSION(S):** *A. gramineus* has potential for use as a mosquito repellent since β -asarone, a main component

of the plant, exhibited a strong repellent activity against *C. pipiens*.

Key Words: *Acorus gramineus*, Asarone, Medicinal plant, Mosquito, Repellent

서 론

모기는 사람에게 질병을 유발하는 대표적인 공중보건 해충의 하나로서 모기가 매개하는 질병인 말라리아(malaria), 뇌염(encephalitis), 황열병(yellow fever), 뎅기열병(dengue fever), 그리고 사상충증(filariasis) 등은 많은 사람들의 생명에 위협이 되고 있다(James, 1992). 이러한 질병에 의한 인류의 피해를 방지하기 위해서 모기를 제어할 수 있는 다양한 방법을 개발하는 지속적인 노력이 필요하다.

모기를 방제하기 위해서 유기인계 및 pyrethroid계 살충제를 살포하는 방법이 있으며 이들 약제의 독성에 의한 부작용 피해를 줄이고자 기피제를 사용하는 방법도 있다. 현재 널리 사용되고 있는 기피제는 diethyltoluamide(DEET)를 대표적인 예로 들 수 있다. DEET는 1946년 미군에 의해서 처음 개발되어 현재까지 모기를 비롯한 파리, 벼룩, 진드기 등의 다양한 해충들을 제어하기 위해 광범위하게 사용되고 있다(Qiu et al.,1998). 하지만, DEET는 사람의 피부를 통한 침투율이 약 17% 수준으로 비교적 높아 경피독성을 야기하며(Feldman and Maibach, 1970, Taylor et al., 1994) 뇌병증(encephalopathy), 급성조병형정신병(acute manic psychosis), 순환기

*교신저자(Corresponding author):

Tel: +82-62-530-2131 Fax: +82-62-530-2139

E-mail: mindzero@chonnam.ac.kr

질환(cardiovascular) 등의 독성을 일으킨다는 연구결과가 보고되고 있다(Pronczuk and Fogel, 1983; Robins and Cherniack, 1986; Osimitz and Grothaus, 1995). 따라서 모기를 제어하기 위해 보다 안전성이 높은 방법을 탐구하는 연구가 필요하다. DEET에 비해 비교적 안전성이 높은 기피제로서 세계적으로 널리 사용되고 있는 천연기피제로는 식물성 오일류가 있다(Mark *et al.*, 2002; Gillij *et al.*, 2008). 식물성 오일은 모기에 대한 기피활성 이외에도 살충활성을 보유하고 있는 것으로 알려져 있어 이를 활용한 모기방제 기술개발에 관한 다양한 연구가 기대된다(El Hag *et al.*, 1999; Kang *et al.*, 2006).

석창포는 동의보감에 의하면 뱃속의 벌레를 죽이고 인체에 기생하는 벼룩과 이를 죽이는 기운이 세다고 전해지고 있다. 이러한 석창포의 효과에 기초하여 우리나라에서는 과거 단오절에 창포물에 머리를 감아 기생하는 이를 제거했다는 풍습이 있다. 석창포는 우리나라의 경우 주로 중남부지방에 분포하고 있으며 최근에는 전라남도 함평과 무안에서 농경지에 대량재배를 성공한 사례가 있다. 국내에서 석창포의 대량재배가 가능하다는 것은 석창포가 원료공급이 가능한 향충 및 향균활성을 지닌 식의약 천연소재로서 그 가치와 활용성이 높다는 것을 의미한다. 이에 본 연구에서는 식의약소재로서 석창포의 활용성을 연구하기 위해 이 식물의 추출물을 이용하여 모기에 대한 기피효과를 시험하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 창포

실험에 사용된 시약 α -asarone(90%)과 β -asarone(98%)은 Sigma-Aldrich(미국)로부터 구입하여 사용하였다. 유기용매는 HPLC급으로서 Fisher(미국) 제품을, 그 밖의 시약은 국내에서 시판되고 있는 1급 시약을 사용하였다. 본 실험에 사용된 석창포(*Acorus gramineus*)는 국내산으로서 전라남도 생약농업협동조합으로부터 뿌리만을 구입하여 사용하였다.

시험곤충

본 실험에 사용된 모기는 암컷 빨간집모기(*Culex pipiens pallens*)로서 우리나라 질병관리본부로부터 분양받았으며 25-28°C의 온도와 70-80% 습도가 유지되는 곳에서 사육하였다. 모기의 사육과 관리는 Choi등(2006) 방법에 준하여 수행하였다.

시료추출

석창포 뿌리 1 kg를 음건한 후 homogenizer를 사용하여 분말상태로 마쇄하였다. 마쇄된 분말 500 g를 5 L 유리수조에 넣고 무게대비 5배량 부피의 ethanol을 가한 다음 실리온 마개로 밀봉한 후 암조건에서 3일 동안 침지하였다. 추출물은 Wathman No. 2 여과지가 깔린 Bchner 깔때기 상에서 감압여과한 다음 50°C에서 기름성분이 남을 때까지 농축하였다. 농축물은 다시 200 mL의 5% NaCl 용액으로 세정한 다음 동일부피의 chloroform으로 2회 추출한 후 추출물을 상기와 같이 농축

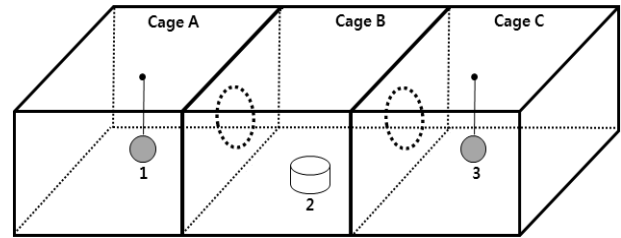


Fig. 1. Experimental design box for repellent activity assays against *Culex pipiens*. 1, 3: filter papers, 2: disposable cup containing mosquitoes.

하였다. 최종적으로 얻어진 농축물(25.25 g)은 적절한 농도수준으로 ethanol에 재용해하여 사용하였다.

모기 기피실험

석창포 추출물의 모기 기피실험은 Fig. 1과 같은 상자를 마련하여 수행하였다. 즉, 90 x 30 x 30 cm(가로 x 세로 x 높이)의 직사각형 아크릴 상자를 제작한 다음 칸막이를 하여 동일한 크기인 3개 방으로 나누고 이를 Cage A, Cage B, 그리고 Cage C로 구분하였다. Cage 칸막이에는 중앙에 위치한 Cage B로 연결되는 지름 20 cm 크기 구멍을 각각 1개씩 만들어 모기가 자유롭게 이동할 수 있도록 하였다. 양쪽 Cage는 각각 대조구와 처리구용으로, 그리고 중앙 Cage는 모기를 방사하는 공간으로 사용하였다. 모기를 방사하기 위해 종이컵에 암컷 모기 30 마리를 넣은 후 모기장으로 덮고 고무줄로 고정시킨 다음 Cage B 중앙에 배치하였다. 상기에서 얻은 추출물을 ethanol에 녹인 다음 50 mg/L 수준으로 Wathman No. 2 여과지에 고르게 분주하였다. 모기 기피실험에서 추출물의 농도는 예비실험에서 기피효과가 인정된 수준을 적용하였다. 대조구용 여과지에는 동일 부피의 ethanol을 분주하였다. 분주 후 여과지를 ethanol이 완전히 휘발될 때까지 실온에서 방치한 후 Cage A에는 ethanol만이 분주된 여과지를, 그리고 Cage C에는 ethanol에 용해한 석창포 추출물이 분주된 여과지를 각 Cage의 중앙에 매달아 고정시킨 다음 Cage B로 통하는 칸막이의 구멍을 막아 냄새가 고르게 퍼지도록 2분 동안 실온에서 방치하였다. 방치 후 칸막이의 구멍을 열고 Cage B에 배치된 종이컵의 모기장을 제거하여 모기를 방사하였다. 방사 후 아크릴 상자를 반복적으로 두드려서 모기가 움직이도록 유도한 다음 10분 간격으로 40분 동안 각각 Cage에서 관찰된 모기 마리수를 조사하였다. 한편, α -asarone과 β -asarone에 대한 모기 기피활성 실험도 상기와 같이 ethanol에 용해하여 실시하였다. 모든 실험은 3반복 수행하였다.

석창포 추출물 분석

석창포 추출물의 분석은 기체크로마토그래피 질량분석기(GC/MS)를 사용하여 수행하였다. GC/MS는 Shimadzu model QP2010 mass spectrometer로 분석컬럼은 DB-5MS (30 m lengths X 0.25 mm I.D., 0.25 μ M film thickness) 이었고 시료주입 방법은 split mode로서 그 비율은 20:1이

었다. 이동상은 헬륨으로서 그 유속은 1.0 mL/min이었으며 칼럼의 온도는 최초 100°C에서 5 분간 머문 후 분당 10°C씩 280°C까지 승온한 다음 최종온도 280°C에서 12분 동안 등온 시켰다. 시료 주입구와 검출기의 온도는 각각 280°C이었으며 GC/MS 이동관(transfer line)의 온도는 250°C이었다. 한편, 시료의 이온화는 70 eV 에너지의 전자충격법(EI mode)으로 실시하였다.

결 과

석창포 추출물의 모기 기피효과

석창포 추출물의 모기에 대한 기피실험의 결과를 Table 1에 제시하였다. 모기를 방사한 후 10분 동안 Cage B에서 대조구인 Cage A로 이동한 모기 마리수는 총 마리수의 60% 수준이었으며 석창포 추출물을 함유한 Cage C로 이동한 모기 마리수는 총 마리수의 12% 수준이었다. 모기를 방사한 후 20분 동안 Cage B에서 Cage A와 C로 이동한 모기 마리수는 각각 총 마리수의 52%와 16% 수준이었다. 또한, 모기를 방사한 후 30-40분 동안 Cage A로 이동한 모기 마리수는 총 마리수의 51-55% 수준이었으며 Cage C로 이동한 모기 마리수는 총 마리수의 10-16% 수준이었다. 모기를 방사한 구역인 Cage B에서 조사된 모기 마리수는 총 마리수의 28-38% 수준으로서 시간대별로 현저한 차이는 관찰되지 않았다. 실험결과를 종합하여 볼 때 대조구인 Cage A에서 관찰된 모기 마리수는 총 마리수의 52-60% 수준으로 가장 높았으며 석창포 추출물이 함유된 Cage C에서 관찰된 모기 마리수는 총 마리수의 12-16% 수준으로 가장 낮았다. 이러한 결과는 모기를 방사한 Cage B에서 석창포 추출물을 함유하고 있는 Cage C로 모기가 이동하는 경향이 상대적으로 낮음을 의미하였으며, 이는 석창포 추출물이 모기에 대한 기피활성을 가지고 있음을 간접적으로 의미하였다.

모기 기피활성 석창포 추출물 성분 분석

석창포 추출물의 모기에 대한 기피효과 실험결과를 토대로 추출물의 활성성분을 구명하기 위해 GC/MS 분석을 수행하였다. 추출물의 GC/MS 분석결과 Fig. 2에서 보여준 바와 같이 주요 peak 2개가 관찰되었으며 머무름 시간 15분에 관찰된 peak는 GC/MS library(Wiley7, NIST21)와 비교하였을 때 *cis*-asarone(β -asarone)과 98% 유사성이 있는 것

으로 밝혀졌다(Fig. 2A). 또한, 머무름 시간 15.7분에 관찰된 peak는 GC/MS library와 비교하였을 때 *trans*-asarone(α -asarone)과 89% 유사성이 있는 것으로 밝혀졌다. 석창포 추출물의 분석결과를 시판되고 있는 α -asarone과 β -asarone 표준품의 GC/MS 분석결과와 비교하였을 때 머무름 시간이 서로 동일하였으며(Fig. 2B), GC/MS 분석결과에서 예측된 mass spectrum의 쪼개짐 경향도 서로 동일하였다. 이러한 결과는 석창포 추출물의 모기에 대한 기피활성이 asarone에서 기인하였음을 의미하였다. 석창포 추출물에 함유된 asarone의 함량을 GC/MS 분석결과를 토대로 볼 때 β -asarone의 함량이 α -asarone에 비해 현저히 높게 관찰되었으며 각각의 표준검량선을 기준으로 정량한 결과 β -asarone은 126 mg/kg 수준이었으며 α -asarone은 14 mg/kg 수준이었다. 이는 β -asarone이 석창포 추출물의 모기 기피활성을 나타내는 주요 성분일 것이라는 가능성을 의미하였다.

Asarone의 모기 기피효과

석창포 추출물의 모기에 대한 기피활성을 나타내는 주요 성분이 asarone이라는 GC/MS 분석결과에 기초하여 이 화

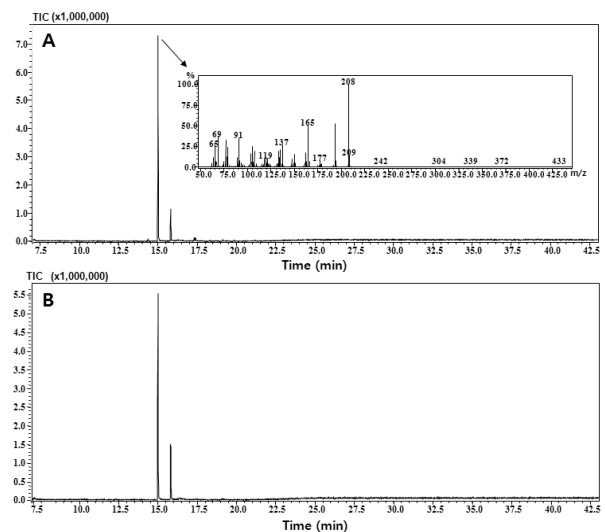


Fig. 2. Typical total ion chromatograms of the extracts of *Acorus gramineus* (A) and commercial asarone standards (B). The insert in Fig. 2A represents GC/MS spectrum of the peak detected at 15.0 min.

Table 1. Changes in mosquito numbers after exposure to the extracts of *Acorus gramineus*

Exposure time (min)	Relative % of mosquito numbers in each cage		
	Cage A	Cage B	Cage C
10	60.0±5.9	28.0±2.4	12.0±3.9
20	52.0±1.5	32.0±1.9	16.0±1.7
30	51.0±4.1	38.7±3.2	10.3±1.5
40	55.0±1.7	30.7±2.6	14.3±1.3

Table 2. Changes in mosquito numbers after exposure to α -asarone

Exposure time (min)	Relative % of mosquito numbers in each cage		
	Cage A	Cage B	Cage C
10	51.2±7.8	33.8±0.7	15.0±7.1
20	44.8±2.7	40.0±1.2	15.2±2.7
30	47.7±1.3	30.0±14.1	22.3±15.5
40	57.2±4.0	25.5±12.4	17.3±8.4

Table 3. Changes in mosquito numbers after exposure to β -asarone

Exposure time (min)	Relative % of mosquito numbers in each cage		
	Cage A	Cage B	Cage C
10	23.4±4.7	49.8±18.5	26.8±13.8
20	29.5±5.4	54.8±11.5	15.7±6.1
30	34.1±3.7	53.4±9.4	12.5±5.7
40	46.9±13.9	48.4±16.5	4.7±2.6

합물이 실제 모기에 대한 기피활성을 보이는지 조사하기 위해 시판중인 α -asarone과 β -asarone을 이용한 기피실험을 수행하였다. 모기에 대한 기피실험을 수행한 결과 Table 2에서 보여준 바와 같이 α -asarone을 50 mg/L 수준으로 처리된 여과지를 함유한 Cage C에서 조사된 모기 마리수는 시험동안 총 마리수의 15-22% 수준이었다. 반면, 대조구인 Cage A에서 조사된 모기 마리수는 총 마리수의 45-57% 수준으로 Cage C에 비해 현저하게 높았다. 모기를 방사한 Cage B에서 조사된 모기 마리수는 시험동안 총 마리수의 25-40% 수준으로서 Cage C에 비해 높았으며 대조구인 Cage A에 비해 낮았다. 이러한 결과는 Cage B에서 방사된 모기가 α -asarone이 함유된 장소로 이동하는 경향보다 대조구 장소로 이동하는 경향이 높다는 것을 의미하였으며, 이는 곧 모기가 α -asarone을 기피하는 경향이 있음을 암시하였다. 또한, β -asarone을 이용하여 모기에 대한 기피실험을 수행한 결과 Table 3에서 보여준 바와 같이 50 mg/L의 β -asarone을 함유한 Cage C에서 조사된 모기 마리수는 시험동안 총 마리수의 5-27% 수준이었으며, 대조구인 Cage A에서 조사된 모기 마리수는 총 마리수의 23-47% 수준이었다. 모기를 방사한 Cage B에서 조사된 모기 마리수는 시험동안 총 마리수의 48-55% 수준으로서 Cage C에 비해 현저하게 높았다. 특히, β -asarone의 기피실험에서는 실험 40분 후 Cage C에서 조사된 모기 마리수가 총 마리수의 5% 수준으로서 동일 시간동안 α -asarone의 기피실험 결과보다 4배 이상 낮은 모기 마리수가 관찰되었다. 이는 α -asarone보다 β -asarone의 모기 기피활성이 우수하다는 것을 간접적으로 의미하였다. 석창포 추출물의 기피활성 결과, 시판중인 asarone의 기피활성 결과, 그리고 석창포 추출

물의 GC/MS 분석결과를 종합하여 볼 때 asarone이 석창포 추출물의 모기 기피활성을 나타내는 주요 성분일 것이라고 사료되었다.

고 찰

석창포는 재배환경에 크게 구애받지 않고 산간지역이나 냇가 등지에서 쉽게 재배될 수 있는 식물로서 이의 다양한 생리활성(Tang and Eisenbrand, 1992)은 식의약소재로서의 활용가치가 높다는 것을 시사한다. 본 연구에서는 식의약소재로서 석창포의 활용성을 연구하고자 석창포 추출물의 모기에 대한 기피효과를 시험하였다. 모기를 시험상자의 빈 공간에 방사한 다음 외부에서 자극을 주어서 이동을 유도하였을 때 석창포 추출물에 노출된 공간에 이동한 모기 마리수 비율은 추출물을 함유하지 않은 공간에 이동한 모기 마리수 비율에 대비하여 현저하게 낮았다. 또한, 추출물을 함유하지 않은 대조구 공간에 이동한 모기 마리수 비율은 모기를 방사한 공간에 남아있는 모기 마리수 비율에 대비하여 매우 높았다. 이러한 결과는 모기가 외부자극에 의해 위협을 느끼고 달아나고자 할 때 추출물에 노출된 공간보다 대조구 공간을 선택하여 이동하게 된다는 것을 의미하였다. 즉, 방사된 모기가 석창포 추출물을 기피하는 경향에서 비롯된 결과임을 의미하였다. 모기가 석창포 추출물을 기피하는 경향이 없었다면 추출물에 노출된 공간과 대조구 공간으로 이동한 모기 마리수 비율은 서로 유사하였을 것이다. 하지만, 본 연구결과에서는 두 공간에서 조사된 모기 마리수 비율이 현저한 차이를 보였다. 한편, 석창포 추출물의 모기 기피효과는 시간대별로 서로 유사하였다. 이는 기피시험을 시작할 때 모기를 방사하기 전에 미리

석창포 추출물을 일정시간 노출하는 동안 추출물이 노출공간에 이미 포화되었기 때문인 것으로 사료되었다.

석창포 추출물의 시험결과를 토대로 모기에 대한 기피효과와 관련이 있는 활성성분을 구명하고자 추출물을 GC/MS 분석한 결과 주요 성분은 asarone으로 밝혀졌으며, β -asarone의 함량이 α -asarone의 함량에 비해 높게 분석되었다. 이에 기초하여 시판중인 asarone 표준품을 이용하여 기피실험을 실시한 결과 α -asarone과 β -asarone 모두 기피활성을 보유하고 있었으며 특히 β -asarone은 노출시간이 경과함에 따라 기피효과가 α -asarone 보다 우수하였다. β -Asarone은 작물의 저장창고에서 발생하는 딱정벌레에 대해 살충력이 우수하다고 알려져 있으며 이는 훈증작용에서 비롯된 것으로 보고되었다(Park et al., 2003). 본 연구에서 모기 기피효과가 석창포 추출물의 훈증작용에서 오는 것이라고 가정하였을 때 추출물에 함유된 asarone 성분이 모기 호흡기를 통해 체내에 유입되어 기피활성을 일으켰을 것으로 사료되었다. 한편, 석창포 추출물에 함유된 β -asarone은 버벌구(*Nilaparvata lugens*)와 배추좀나방(*Plutella xylostella*)에 대해서 살충력을 지니고 있으며(Lee et al., 2002) 모기유충에 대한 살충효과를 보유하고 있는 것으로 보고되고 있다(Choi et al., 2006).

모기는 인류에 피해를 주는 대표적인 위생해충의 하나로서 모기를 방제하기 위해서 사람들은 주로 농약을 직접 살포하는 방법을 선호해왔다. 하지만, 모기는 특성상 이동성이 빠르고 서식지역이 넓어서 약제를 살포할 때 살충성분의 비산에 의한 환경노출 증가와 더불어 그에 따른 비선택적 생물독성 등은 고려되어야 할 사항 중 하나이다. 이에 모기를 방제하기 위해 사용되는 약제의 환경노출과 생물독성을 경감하고자 하고자 기피제를 개발하고자 하는 많은 노력이 진행되고 있다(Oyedele et al., 1995; Ansari et al., 2000; Cheng et al., 2003; Sakulku et al., 2009). 본 연구에서 석창포 추출물은 향후 모기를 친환경적으로 제어하기 위한 식의약소재로서 잠재성이 있을 것으로 기대되었다.

요 약

식의약소재로서 석창포의 활용성을 조사하고자 석창포 추출물의 모기에 대한 기피효과를 시험한 결과 모기를 방사한 장소에서 추출물에 노출된 공간으로 이동한 모기 마리수 비율은 추출물을 함유하지 않은 공간으로 이동한 모기 마리수 비율에 대비하여 현저하게 낮았다. 또한, 방사한 공간에 남아 있는 모기 마리수 비율은 석창포 추출물을 함유하지 않은 공간으로 이동한 모기 마리수 비율에 비해 낮았다. 이는 모기가 석창포 추출물을 기피하는 경향에서 비롯된 결과임을 의미하였다. 석창포 추출물의 모기 기피 활성성분을 조사하고자 추출물을 GC/MS 분석한 결과 주요 성분은 β -asarone으로 밝혀졌다. 시판중인 asarone을 이용하여 기피실험을 실시한 결과 α -asarone과 β -asarone 모두 기피활성을 보였으며 β -asarone이 α -asarone에 비해 기피활성이 높았다. 이러한 결과는 석창포 추출물이 친환경적으로 모기를 제어하기 위한 식의약소

재로 활용될 수 있음을 의미하였다.

감사의 글

This study was supported by Environmentally-friendly Agriculture Research Program from the Ministry of Agriculture, Forest, Fishery and Food, Republic of Korea. Jin Kwan Jung and Sang Hyun Park were volunteers who involved in this study for their education program supervised by Mun Sik Kim. The authors would like to express many thanks to the members of Bioactive Natural Products Laboratory, Seoul National University, for their assistances throughout the experiment.

참고문헌

- Ansari, M.A., Vasudevan, P., Tandon, M., Razdan, R.K., 2000. Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil, *Biores. Technol.* 71, 267-271.
- Cheng, S.S., Chang, H.T., Chang, S.T., Tsai, K.H., Chen, W.J. 2003. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae, *Biores. Technol.* 89, 99-102.
- Choi, J.K., Lee, J.H., Lee, J.H., Lee, S.G., Han, Y.S., Han, T.H., 2006. Eco-friendly control of *Culex pipiens* (mosquito) larvae by *Acorus calamus* (sweet flag) and *Acorus gramineus* (grassy-leaved sweet flag) extracts, *Korean J. Plant Res.* 19, 721-726.
- El Hag, E.A., El Nadi, A.H., Zaitoon, A.A., 1999. Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae), *Phytother. Res.* 13, 388-392.
- Feldman, R.J., Maibach, H.I., 1970. Absorption of some organic compounds through the skin in man, *J. Invest. Dermatol.* 54, 399-404.
- Gillij, Y.G., Gleiser, R.M., Zygadlo, J.A., 2008. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants, *Biores. Technol.* 99, 2507-2515.
- James, A.A., 1992. Mosquito molecular genetics: the hands that feed bite back, *Science*, 257, 37-38.
- Kang, S.H., Kim, G.H., Kim, M.K., Seo, D.K., 2006. Insecticidal activity of essential oils against larvae of *Culex pipiens pallens*, *Korean J. Pest. Sci.* 10, 43-49.
- Lee, H.K., Park, C., Ahn, Y.J., 2002. Insecticidal activities of asarones identified in *Acorus gramineus* rhizome against *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) and *Plutella xylostella* (Lepidoptera:

- Yponomeutoidae), *Appl. Entomol. Zool.* 37, 459-464.
- Fradin, M.S., Day J.F., 2002. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites, *N. Eng. J. Med.* 347, 13-18.
- Osimitz, T.G., Grothaus, R.H., 1995. The present safety assessment of DEET, *Am. Mosq. Control Assoc.* 11, 274-278.
- Oyedele, A.O., Gbolade, A.A., Sosan, M.B., Adewoyin, F.B., Soyelu, O.L., Orafidiya, O.O., 2002. Formulation of an effective mosquito-repellent topical product from lemongrass oil, *Phytomedicine* 9, 259-262.
- Park, C., Kim, S.I., Ahn, Y.J., 2003. Insecticidal activity of asarones identified in *Acorus gramineus* rhizome against three coleopteran stored-product insects, *J. Stor. Products Res.* 39, 333-342.
- Pronczuk, J., Fogel, E., 1983. Toxicity of an insect repellent: *N,N*-dimethyl-*m*-toluamide (DEET), *Vet. Hum. Toxicol.* 25, 422-423.
- Qiu, H., McCall, J.W., Jun, H.W., 1998. Formulation of topical insect repellent *N,N*-dimethyl-*m*-toluamide (DEET): vehicle effects on DEET in vitro skin permeation, *Int. J. Pharm.* 163, 167-176.
- Robins, P.J., Cherniack, M.G., 1986. Review of biodistribution and toxicity of the insect repellent *N,N*-dimethyl-*m*-toluamide (DEET), *J. Toxicol. Environ. Health* 18, 503-525.
- Sakulku, U., Nuchuchu, O., Uawongyart, N., Puttipipatkachorn, S., Soottitantawat, A., Ruktanonchai, U., 2009. Characterization and mosquito repellent activity of citronella oil nanoemulsion, *Int. J. Pharm.* 372, 105-111.
- Tang, W., Eisenbrand, G., 1992. *Chinese Drugs of Plant Origin*, Springer, New York.
- Taylor, W.G., Danielson, T.J., Spooner, R.W., Golsteyn, L.R., 1994. Pharmacokinetic assessment of the dermal absorption of *N,N*-diethyl-*m*-toluamide (DEET) in cattle, *Drug Metab. Dispos.* 22, 106-112.