

ポプラ型プロポリスの生理活性物質の規格分析

| | |
|-------|--|
| 誌名 | ミツバチ科学 = Honeybee science |
| ISSN | 03882217 |
| 著者 | Popova, M. Bankova, V. Butovska, D. ほか5名, |
| 巻/号 | 24巻2号 |
| 掲載ページ | p. 61-66 |
| 発行年月 | 2003年6月 |

ポプラ型プロポリスの生理活性物質の規格分析

M. Popova, V. Bankova, D. Butovska, V. Petkov, B. Damyanova,
A. G. Sabatini, G. L. Marcazzan, S. Bogdanov

プロポリス（蜂やに）は東ヨーロッパでは伝統的に民間医薬として利用され、その有用な生理活性によって広く知られている（Marcucci, 1995; Burdock, 1998）。起源植物とそれぞれのプロポリスの化学的組成は、産地の植生に高く依存し、このため産出される地域ごとに大きく異なっている（Bankova et al., 2000）。これまでの多くの研究によって、温帯ではミツバチはポプラ類（*Populus* 属）の芽の滲出物を選択的にプロポリス原料として集めることが明らかにされている。これはヨーロッパ（Tamas et al., 1979; Popravko and Sokolov, 1980; Nagy et al., 1986; Greenaway et al., 1987; Bankova and Kuleva, 1989）、北米（Garcia-Viguera et al., 1993）、アジア北部（Bankova et al., 1992; Chi et al., 1996）、さらにはニュージーランド（Markham et al., 1995）などで確かめられている。したがって温帯地域産のプロポリスの主要成分はポプラの芽に特有のフェノール化合物、すなわち、フラボノイドアグリコン（非配糖体型フラボノイド）、桂皮酸類およびそのエステルとなる（Bankova and Kuleva, 1989; Greenaway et al., 1990; Garcia-Viguera et al., 1992; Hegazi et al., 2000）。そしてこれらの化合物が、プロポリスの主要な薬理効果、抗細菌作用、抗炎症作用、肝臓保護作用、抗酸化作用、免疫調整作用などの主体となる（Marcucci, 1995; Burdock, 1998; Banskota et al., 2001）。

プロポリス中の生理活性物質を明らかにすることは、これらの成分がプロポリスの規格化や品質管理において不可欠なことで極めて重要である。1960年以降、プロポリスの作用機作を明らかにするために数々の研究が行われてき

た。1980年代後半までは、こうした研究は主にヨーロッパを中心に進められたため、扱われたプロポリスはいわゆるポプラ由来のプロポリスであった。ここでは、まず「ポプラ型プロポリス」の活性について概観しておきたい。

ポプラ型プロポリスの特徴

微生物に対する活性はプロポリスの基本的な特徴を示す活性であり、そのため、研究史上も初期にこの研究が行われてきた。最初の研究成果は Villanueva et al. (1964, 1970) によるもので、ポプラの芽の滲出物に含まれる2種類のフラボノイドアグリコン、ガランギンとピノセンブリンを同定し、これがプロポリスに含まれ抗菌活性を示すことを明らかにした。その後のヨーロッパ産プロポリスの研究でも、これらの結果が再確認され、さらにポプラに含まれる数種のフェノール化合物、ピノバンクシン、ピノバンクシン 3-O-酢酸、サクラネチン、*p*-クマール酸ベンジル（Metzner et al., 1979）、カフェ酸ベンジル、カフェ酸フェネチル、カフェ酸イソペンチル（Kujumgiev et al., 1993）も同様の効果を示すことが明らかになってきた。ピノセンブリンとカフェ酸の混合物は抗カビ作用を示すことも確認され（Metzner et al., 1979）、また、カフェ酸やフェルラ酸のようなフェノール酸類も抗菌活性を示すことが明らかになった（Ghisalberti, 1978）。さらにその後の研究で、ポプラ型プロポリス、およびそれに含まれる成分としてのカフェ酸、カフェ酸フェネチルエステル（CAPE）、ケルセチンが、細菌の細胞膜のエネルギー変換を脱共役し、また細菌の運動性を抑制することが発見され、おそらくこれらの

作用が抗菌性の機作になっている (Mirzoeva et al., 1997). ポプラ型プロポリスに含まれる多くの微量フラボノイド類も, 抗菌活性物質であることが確認されている (Cowan, 1999).

プロポリスのアルコール抽出物は局部麻酔性を示すが, この作用もやはりピノセンプリンと種々のカフェ酸類の混合物を主体として起こる (Ghisalberti, 1978).

プロポリスによる抗炎症作用はそのラジカル消去作用によるところが大きい. 天然のフェノール化合物, 特にフラボノイドはラジカル消去作用を持つ物質としてよく知られている. ポプラ型プロポリスの個々の成分についての詳細な研究により, プロポリスの特筆的な効果である抗炎症作用に大きく関与するのは CAPE, ガランギン, ケンフェロールおよびケンフェリドの活性である (Krol et al., 1996). フラボノイドアグリコンと CAPE は炎症過程のいくつかの反応に影響を与えることが報告されている. ポプラ型プロポリスと, その含有成分である CAPE, カフェ酸, およびケルセチンは, 生体内でのジモザン誘導型急性炎症におけるプロスタグランジンとロイコトリエン生成を抑制し, リポキシゲナーゼによるアラキドン酸代謝経路を抑制する (Mirzoeva and Calder, 1996).

プロポリスの抗腫瘍作用には特に強い関心が向けられている. プロポリス中に発見されている抗腫瘍物質のうち有名なものは CAPE で, これはポプラ型プロポリスにだけ, 必ずといっていいほど含まれている. いくつかの実験において, CAPE は有意な細胞障害性を種々の腫瘍細胞系に対して示し, 抗腫瘍活性は注目に値するものであった (Burdock, 1998; Banskota et al., 2001). 同様の活性が, さらにポプラ型プロポリスに含まれる 2 種の成分, カフェ酸ベンジルとカフェ酸シンナミルでも確認された (Usia, et al., 2002; Banskota et al., 2002). 最近, CAPE は数種のヒト腫瘍細胞系に対して有効な抗増殖活性を有することも確認された. プロポリス中の成分の抗腫瘍効果を考えた場合, ポプラ型プロポリスに含まれるカフェ酸エステル類 (フェネチル, ベンジル, ペンチル) が最も強い活性

を示すと見なされる (Banskota et al., 2001). CAPE 自体は抗腫瘍物質としてだけでなく, 飼料レベルの投与においてさえ活性を示すほどの化学防御効果を示す物質群の候補として期待されている (Mahmoud et al., 2000).

また, CAPE とその類似化合物はヒト免疫不全ウイルス (エイズウイルス) HIV-1 のインテグラーゼという酵素に対して阻害的な効果を示す (Burke et al., 1995, Artico et al., 1998). これに加えて CAPE はウサギの脊髄虚血性再灌流障害を予防し, またラットでも再灌流障害を防ぐ (Ilhan et al., 1997; Koltuksuz et al., 1999).

成分分析の必要性

ここまで述べてきたような生理活性物質の定量は, プロポリスを医薬品として用いる場合には極めて重要となる. しかし, 高速液体クロマトグラフィ (HPLC) やガスクロマトグラフィ (GC) を用いたルーチン分析で, こうしたすべての生理活性物質の定量を行おうとすると, 目的物質があまりに多種で, そのため個々の物質の標準品をそろえることが事実上制限要因となり, 非常に困難を要する. 一方で, プロポリスおよびその含有成分の生理活性に関する文献的なデータを総合してみると, 例えば特に抗微生物活性に関しては, 個々の物質の活性として評価するのは不可能であり, また同時にある特定微生物に対する活性しか調べることができない. またプロポリスから単離した個々の物質の抗菌活性を調べる場合には, 抽出物全体に比べて強い活性は見られないことも理解が必要である (Kujumgiev et al., 1993; Bonvehi et al., 1994). 実際に, プロポリスは天然に調合された状態でこそ多くの薬理効果を示からである (Kujumgiev et al., 1999).

したがって, 吸光度分析のように総フラボノイド量や, 総フェノール化合物量を定量する方が, ポプラ型プロポリスを日常的に管理するには手っ取り早くてよいといえる. しかしながら, 何より最初に, 特定の試料プロポリスがポプラ型であるかどうかを調べてから, 一定の吸光度分析の手順に入らなければならない. 起源

植物の異なるプロポリスの場合、標準や検量の不適合から、こうした分析結果の信用性が低下してしまうからである。ポプラ型プロポリスの化学的組成は、1) 総フラボンおよびフラボノール量、2) 総フラバノンおよびデヒドロフラボノール量、3) 総フェノール化合物量といった要素によって特徴づけられている。

本稿では、ポプラ型プロポリスの同定方法と吸光度測定による規格分析法、HPLCによる主要成分の分析について述べていきたい。

規格分析方法の確立

プロポリスの調整

試料として、ブルガリア産 (B-2)、イタリア産 (I-2, I-3)、スイス産 1 (S-3) の計 4 点を用いて分析方法の確立を行った。これらの試料は、すでにガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) で成分分析をすでに行ったものである (Bankova et al., 2002)。

薄層クロマトグラフィーによるポプラ型判定

薄層クロマトグラフィー (TLC) はシリカゲル薄層板 (Alufolien Kieselgel Merck F₂₅₄) を用い、石油エーテル/酢酸エチル (7:3) を移動相として展開した。各スポットは紫外光 (366 nm) 照射下で可視化し、さらに 60% 硫酸エタノール溶液を噴霧後、100°C に加熱して発色させた。用いた標準物質とその薄層上でのスポットの特徴は表 1 に示した。

定量分析手順

総フラボンおよびフラボノール量は塩酸アルミナ複合体生成をもとにした吸光度測定で行った (Bonvehi and Coll, 1994; Popova et al., 2003)。総フラバノンおよびデヒドロフラボノ

ール量は DAB9 による比色法を標準物質にピノセンプリンを用いることでプロポリス用に改良し、これを適用した (Nagy and Grancai, 1996; Popova et al., 2003)。総フェノール化合物量は、Folin-Ciocalteu 法 (Waterman and Mole, 1994, Woisky and Salatino, 1998) を用い、標準物質としてピノセンプリン/ガラングン (2:1) 混合物を用いた。分析方法とそれぞれの検証試験については Popova et al., (2003) に詳細を掲載の予定である。

プロポリス抽出液

抽出に先立って、冷やしたプロポリスを粉碎し、70% エタノールを用いて 2 段階の抽出液を得た。まず 30 mL のエタノールに 1 g のプロポリスを溶解し、これを室温に 24 時間放置した。これを濾過して、同じ手順で 2 度目の抽出液を得た。3 回目抽出を行い、これを 5% 塩化第二鉄と反応させ、反応のないことで 2 回目までの抽出が完全であることを確認した。抽出液は濾紙で濾過し、2 回分を合わせ、メスフラスコを用いて 100 mL に希釈した。この抽出液は、このまま総フラバノンおよびデヒドロフラボノール量の定量用に用いた。

抽出液 3 mL を 50 mL のメスフラスコに移し、メタノールで希釈した。これは総フェノール化合物量および総フラボンおよびフラボノール量の定量に用いた。

高速液体クロマトグラフィーによる分析

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析では、移動相として溶離液 A: 水/酢酸 (95:5 v/v) および溶離液 B: メタノールを用い、プロポリス成分の分離を行った。送液量は毎分 1 mL で、溶離液 A 75%: B 25% から始めて、10 分後に B 40%、20 分後に B 50%、45 分後に B 70%、60 分後に B 100% となるようにグラジエント設定した。フェノール化合物については紫外部吸光度検出器で 290 nm の吸光度を測定した。プロポリス中の成分は標準物質との溶出時間によって仮同定し、添加試験 (スパイク) によって確認した。フェノール化合物 (カフェ酸、*o*-クマール酸、フェルラ酸、クリシン、ガラングン、ケンフェロール、ピノセンプリン、

表 1 TLC によるポプラ型判定に用いた標準物質

| 標準物質 | Rf 値 | スポットの発色 | |
|-----------|------|---------|-----------|
| | | 紫外光照射下 | 硫酸噴霧 + 加熱 |
| ピノストロビン | 0.82 | 暗黄色 | 灰色 |
| ピノセンプリン | 0.63 | 橙色 | 黄橙色 |
| フェルラ酸ベンジル | 0.57 | 青色 | 灰色 |
| ガラングン | 0.52 | 暗黄色 | 黄色 |
| クリシン | 0.46 | 暗褐色 | 黄色 |
| カフェ酸フェネチル | 0.31 | 青色 | 灰色 |
| ケンフェロール | 0.20 | 黄色 | 黄色 |

ピノストロビン, カフェ酸フェネチル, カフェ酸イソベンチル, カフェ酸ベンジル) は濃度とピーク面積との散布図上で, 検量線が直線になる範囲を求め, 検量用の濃度がこの範囲になるようにして定量を行った. プロポリスの試料液はメタノールで希釈して, 最終濃度が乾燥プロポリス換算で 1.0 mg/mL となるようにした. すべての分析は 3 反復とした.

結果および考察

試料プロポリスについてのポプラ型判定は, 分類指標となる特定の物質の有無によって行った. これはポプラ類の芽の滲出物に関して現在知られている化学組成 (Nagy et al., 1986; Greenaway et al., 1990; Bankova et al., 2000) をもとに, フラボノイドアグリコンとしては, ピノセンブリン, ピノストロビン, クリシン, ガランギン, ケンフェロールを, エステル類としては, フェルラ酸ベンジル, カフェ酸フェネチルを指標物質として選んだ. これらの物質を含む標準混合試液とプロポリスのアルコール溶液を薄層クロマトグラフィで比較した (図 1). 今回用いた 4 試料のうち 3 試料 (B-2, I-2 および S-3) が, Rf 値, 紫外光下および発色後のス

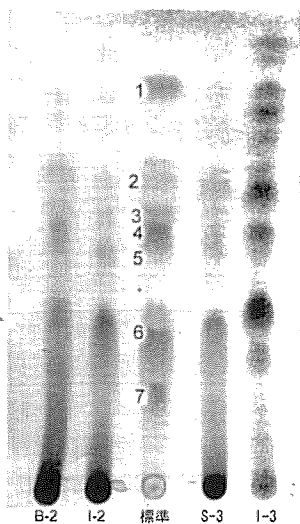


図 1 TLC による試料プロポリスの比較
1: ピノストロビン, 2: フェルラ酸ベンジル, 3: ピノセンブリン, 4: ガランギン, 5: クリシン, 6: カフェ酸フェネチル, 7: ケンフェロール

ポット色から見て, すべての指標物質を含んでおり, ポプラを起源植物としていることが明かであった. これらの試料がポプラ起源であることはすでに GC-MS でも確認済みであった (Bankova et al., 2002). ポプラ型とは異なる判定となった試料 I-3 は, イタリアのシシリー島で得られたものであり, 薄層上のスポットパターンは明らかに異なっており, GC-MS による分析でジテルペン化合物が主要成分であることが確認されていた (Bankova et al., 2002).

TLC による判定結果に基づいて, ポプラ型の試料についてはフラボノイドとフェノール化合物の定量分析を, 吸光度測定と HPLC を用いて行った. HPLC による定量結果は主な成分について表 2 に, 典型的なクロマトグラムを図 2 に示した. また表 3 には吸光度分析と HPLC の分析結果の比較を, 図 3 には HPLC と同じ試料の UV 吸収スペクトルを示した. HPLC の分析では 12 成分という限られた成分についての定量であったが, これらは主要成分であり, 両分析方法の結果は相互に信頼できるものとな

表 2 HPLC による試料プロポリスの定量分析結果

| 主要成分 | B-2 | I-2 | I-3 | S-3 |
|------------|-------|------|-------|------|
| カフェ酸 | 0.07 | 0.07 | — | 0.04 |
| | 0.01 | 0 | — | 0.01 |
| フェルラ酸 | 0.01 | 0.10 | — | 0.03 |
| | 0 | 0.01 | — | 0 |
| p-クマール酸 | 0.01 | 0.03 | — | 0.12 |
| | 0.001 | 0 | — | 0.01 |
| ケンフェロール | 0.01 | 0.26 | — | 0.35 |
| | 0 | 0.03 | — | 0.02 |
| カフェ酸ベンジル | 0.20 | 0.34 | — | 0.08 |
| | 0.05 | 0.14 | — | 0.01 |
| カフェ酸フェネチル | 0.19 | 0.19 | — | 0.41 |
| | 0.05 | 0.02 | — | 0.01 |
| カフェ酸イソベンチル | 0.41 | 0.20 | 0.14 | 0.48 |
| | 0.18 | 0.03 | 0.001 | 0.02 |
| ピノセンブリン | 0.48 | 0.50 | 0.19 | 0.43 |
| | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.02 |
| ピノストロビン | 0.02 | 0.18 | — | 0.40 |
| | 0.005 | 0.01 | — | 0.07 |
| クリシン | 0.54 | 0.45 | — | 0.45 |
| | 0.15 | 0.08 | — | 0.26 |
| ガランギン | 0.61 | 0.50 | 0.06 | 0.26 |
| | 0.09 | 0.05 | 0.01 | 0 |

上段: 3 反復の平均, 下段: 標準偏差
単位は $\mu\text{g}/10 \mu\text{g}$

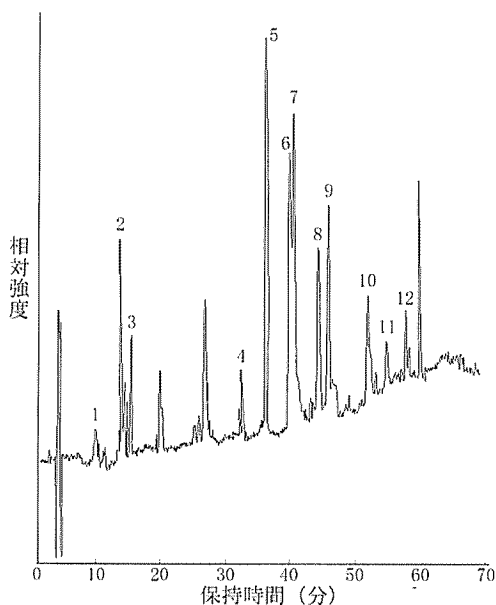


図2 HPLCによる分析例(試料S-3)

1: カフェ酸, 2: *o*-クマール酸, 3: フェルラ酸, 4: ケンフェロール, 5: ピノバンクシン 3-O-酢酸*, 6: カフェ酸ベンジル, 7: ピノセンブリン, 8: カフェ酸フェネチル, 9: カフェ酸イソペンチル, 10: クリシン, 11: ガランギン, 12: ビノストロピン

* 標準試料が入手できないため定量は行わなかった

っていて、それぞれ充分に一致しているといえる。HPLCによる定量においては、多くの場合、フラボンとフラバノンで吸光度分析よりも低い値が得られ、これは12成分以外の同類の微量成分がHPLCの分析結果では加算されないためであると考えられる。総フェノール化合物量でも予想より若干低い値になることがあった。これは試料の差によって、標準物質としたピノセンブリン/ガランギン(2:1)が同等の指標性を示さないためであると思われる。しかし、実際のフェノール化合物総量よりも低い値とはいえ、通常の分析においては充分に実用可能な範囲である。これ以上の精度を求めるとしたら非常に複雑で時間のかかる定量分析の手順と、多大な機材コストが必要とされてしまう。

試料I-2はポプラ型ではなかったが、上記の手順によって分析を行い、これによって、他の起源植物のプロポリスでは品質の信頼性が低下することを示した。ポプラ型プロポリスに含まれる成分の含有量は予想通り非常に少なかった。

表3 試料プロポリス中の生理活性物質群

| 試料 | 方法 | F+F | F+D | Ph |
|-----|------|------|------|------|
| B-2 | UV | 1.42 | 0.54 | 2.63 |
| | HPLC | 1.15 | 0.63 | 2.65 |
| I-2 | UV | 1.58 | 0.58 | 2.45 |
| | HPLC | 1.24 | 0.68 | 2.84 |
| I-3 | UV | 4.1 | 1.8 | 4.0 |
| | HPLC | 0.6 | 1.9 | 3.9 |
| S-3 | UV | 1.15 | 0.49 | 2.42 |
| | HPLC | 1.07 | 0.49 | 2.71 |

単位は mg/g

F+F: フラボンおよびフラボノール

F+D: フラバノンおよびデヒドロフラボノール

Ph: 総フェノール化合物

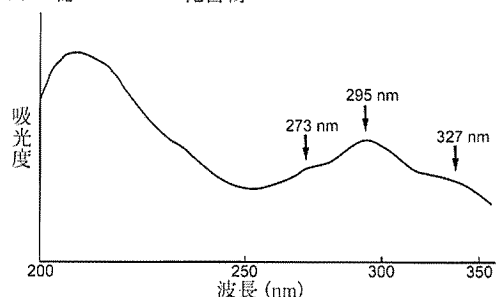


図3 試料S-3のUVスペクトル
典型的なポプラ型パターンである。

GC-MSによる分析で、抗菌作用を示すラブダンおよびクレロダン骨格を持つジテルペン酸類の存在は明かであった(Bankova et al., 1996, Velikova et al., 2000)ので、この試料も生理活性は持つが、その主体が成分的にはフェノール化合物ではなく、したがってその定量のためには別の何らかの手法を用いる必要がある。

以上の結果は、起源植物からのプロポリス判定が有効であることを支持するものである(Bankova and Marcucci, 2000)。また起源植物を知ることが今日的なプロポリスの規格化や品質管理において決定的な重要性を持つことを示しているといえるだろう。

(著者の住所は下記参照)

翻訳 中村純)

主な引用文献

- Bankova, V., S.L. De Castro and M.C. Marcucci. 2000. *Apidologie* 31: 3-15.
- Bankova, V., A. Dylgerov, S. Popov, L. Evstatieva, L. Kuleva, O. Pureb and Z. Zamjansan. 1992. *Apidologie* 23: 79-85.
- Bankova, V. and L. Kuleva. 1989. *Anim. Sci.* 2: 94-98. (in Bulgarian).

- Bankova, V., M. Popova, S. Bogdanov, A. G. Sabatini. 2002. *Z. Naturforsch.* 57c: 530-533
- Bankova, V. and M. C. Marcucci. 2000. *Bee World* 81: 182-188.
- Bankova, V., M. C. Marcucci, S. Simova, N. Nikolova, A. Kujumgiev and S. Popov. 1996. *Z. Naturforsch.* 51c: 277-280.
- Banskota, A., T. Nagaoka, L. Y. Sumioka, Y. Tezuka, S. Awale, K. Midorikawa, K. Matsushige and S. Kadota. 2002. *J. Ethnopharmacol.* 80: 67-73.
- Banskota, A.H., Y. Tezuka, and S. Kadota. 2001. *Phytother. Res.* 15: 561-571.
- Bonvehi, J.S. and F.V. Coll. 1994. *Z. Naturforsch.* 49c: 712-718.
- Burdock, G.A. 1998. *Food Chem. Toxicol.* 36: 347-363.
- Garcia-Viguera, C., F. Ferreres, and F.A. Tomas-Barberan. 1993. *Z. Naturforsch.* 48c: 731-735.
- Garcia-Viguera, C., W. Greenaway, F.R. Whately. 1992. *Z. Naturforsch.* 47c: 634-637.
- Ghisalberti, E. L. 1978. *Bee World* 60: 59-84
- Greenaway, W., T. Scaysbrook T. and F. R. Whately. 1990. *Bee World* 71: 107-118.
- Hegazi, A. and F.K. Abd El Hady. 2000. *Z. Naturforsch.* 56c: 82-88.
- Krol, W., S. Scheller, Z. Czuba, T. Matsuno, G. Zydowicz, J. Shani and M. Mos. 1996. *J. Ethnopharmacol.* 55: 19-25.
- Kujumgiev, A., V. Bankova, A. Ignatova and S. Popov. 1993. *Pharmazie* 48: 785-786.
- Kujumgiev, A., I. Tsvetkova, Y. Serkedjieva., V. Bankova, R. Christov and S. Popov. 1999. *J. Ethnopharmacol.* 643: 235-240.
- Marcucci, M.C. 1995. *Apidologie* 26: 83-99.
- Markham, K. R., K. A. Mitchell, A. L. Wilkins, J. A. Daldy and Y. Lu. 1996. *Phytochemistry* 4: 205-211.
- Metzner, H, H. Bekemeier, M. Paintz and E. Schneidewind. 1979. *Pharmazie* 34: 97-102.
- Nagy, E., V. Papay, G. Litkei and Z. Dinya. 1986. *Stud. Org. Chem. Amsterdam.* 23: 223-232.
- Nagy, M. and D. Grancai. 1996. *Pharmazie* 51: 100-101.
- Usia, T., A. H. Banskota, Y. Tezuka, K. Midorikawa, K. Matsushige and S. Kadota. 2002. *J. Nat. Prod.* 65: 673-676.
- Velikova, M., V. Bankova, I. Tsvetkova, A. Kujumgiev, and M. C. Marcucci. 2000. *Fitoterapia* 71: 693-696.
- Villanueva, V.R., M. Barbier, M. Gonnet and P. Lavie. 1970. *Ann. Inst. Pasteur, Paris* 118: 84-87.
- Villanueva, V.R., D. Bogdanovsky, M. Barbier, M. Gonnet and P. Lavie. 1964. *Ann. Inst. Pasteur, Paris* 106: 292-302.
- Woisky, R.G. and A. Salatino. 1998. *J. Apic. Res.* 37: 99-105.

MILENA POPOVA¹, VASSYA BANKOVA¹, DANIELA BUTOVSKA¹, VALENTIN PETKOV¹, BORYANA DAMYANOVA¹, ANNA GLORIA SABATINI², GIAN LUIGI MARCAZZAN² and STEFAN BOGDANOV³. Poplar type propolis and analysis of its biologically active components. *Honeybee Science* (2003) 24(2): 61-66. ¹ Institute of Organic Chemistry with Centre of Phytochemistry, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev str. Bl. 9, 1113 Sofia, Bulgaria, ² National Institute of Beekeeping, 80 Via di Saliceto, 40128 Bologna, Italy, ³ Swiss Bee Research Centre, FAM Liebefeld, Schwarzenburgstr. 161, CH-3003 Bern, Switzerland.

Many studies have shown that in the temperate zone bees almost exclusively collect propolis from the bud exudate of poplar trees. The main components of propolis in these regions are the typical "poplar bud" phenolics: flavonoid aglycones, cinnamic acids and their esters, known to be responsible for essential pharmacological activities of bee glue: antimicrobial, anti-inflammatory, hepatoprotective, antioxidative, immunomodulating, etc. Obviously, the quantification of these substances is of crucial importance for the use of propolis preparations in medicine. To characterize the quality of poplar propolis, we developed a simple TLC procedure for proving identity of poplar origin, followed by rapid spectrophotometric quantification of the important compound groups (total flavones and flavonols by the $AlCl_3$ method, total flavanones and dihydroflavonols by the 2,4-dinitrophenylhydrazine method, and total phenolics by the Folin-Ciocalteu method) using appropriate standards. Identity test is of crucial importance, because for propolis of other plant origin the analytical procedures described would be irrelevant, due to unsuitable standards and calibration. Four samples (from Bulgaria, Switzerland and Italy) have been analyzed by the procedures described and the results confirmed by HPLC analysis of the main individual components. The results support the "source plant" approach to propolis analysis and demonstrate that the knowledge of propolis plant sources is of decisive importance in up-to-date propolis standardization and quality control.