
LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

VYUŽITÍ PLASMIDU pBluescript PRO DETEKCI ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY ROSTLINNÝCH FENOLOVÝCH LÁTEK

ZUZANA RYBKOVÁ a KATEŘINA MALACHOVÁ

Katedra biologie a ekologie, Přírodovědecká fakulta Ostravské univerzity v Ostravě, 30. dubna 22, 701 03 Ostrava
zuzana.rybkova@osu.cz

Došlo 19.8.09, přijato 12.5.10.

Klíčová slova: antioxidant, hydroxylové radikály, fenolové kyseliny, plasmid DNA

Úvod

Rostliny jsou dlouhodobě považovány za velmi cenný zdroj látek prospěšných člověku. K příznivě působícím látkám s antioxidačními, ale také antibakteriálními, antimutagenními, antikarcinogenními a protizánětlivými účinky patří např. fenolové látky nacházející se zejména v ovoci a zelenině¹. Jejich rozsáhlý ochranný efekt je představován celou řadou vzájemně se doplňujících účinků přispívajících k vytvoření homeostázy. Dnes je známo, že narušení této rovnováhy, např. působením volných radikálů, může vést ke vzniku a rozvoji četných onemocnění a chorobných stavů, např. aterosklerózy, diabetu, zánětlivých stavů, neurologických onemocnění, očních chorob, onemocnění trávicího traktu a dalších². K fenolovým antioxidantům řadíme různorodé látky s aromatickým jádrem, případně s heterocyklickou strukturou a navázanými hydroxylovými skupinami a jinými substituenty. Jde o látky, které jsou schopné působit jako efektivní vazače oxidujících molekul. Mohou vázat nejen volné radikály, ale i přechodné kovy za vzniku chelátů a inhibovat enzymy katalyzující vznik volných radikálů³. Na druhé straně bylo však zjištěno, že některé fenolové sloučeniny mohou, za jistých okolností (např. v přítomnosti měďnatých iontů), vykazovat i prooxidační účinky a indukovat tak poškození DNA nebo peroxidaci lipidů⁴. Uvádí se, že tato prooxidační aktivita může sehrávat roli i v karcinogenezi a apoptóze⁵.

Cílem předložené práce bylo detegovat antioxidační účinek kyselin kávové, chlorogenové, ferulové a galové a tří vzorků rostlinných extraktů obsahujících fenolové látky s předpokládaným antioxidačním účinkem (extraktu z *Magnolia officinalis*, extraktu z *Cymbopogon citratus* a VinOserae grape extraktu). Antioxidační efekt testova-

ných vzorků byl detegován molekulárně genetickou metodou založenou na konformačních změnách plasmidu pBS II SK (–). Změny v DNA byly identifikovány gelovou elektroforézou. Tato metoda je založena na rozdílné elektroforetické mobilitě různých topologických forem DNA. V případě indukce oxidačního poškození DNA na úrovni cukr-fosfátového řetězce jsou zlomy v DNA hodnoceny jako konverze superhelikální kruhové formy DNA na formu otevřenou kruhovou a lineární. Naopak protektivní efekt testovaných vzorků byl analyzován jako inhibice zlomů indukovaných peroxidem vodíku za přítomnosti iontů železa v řetězci plasmidové DNA.

Experimentální část

Chemikálie a materiál

Kyselina ferulová (CAS: 537-98-4) a kyselina kávová (CAS: 331-39-5) byly zakoupeny u firmy Sigma-Aldrich, kyselina chlorogenová (CAS: 327-97-9) a kyselina galová (CAS: 149-91-7) u firmy Acros Organics. Roztoky fenolových kyselin byly připraveny rozpuštěním látek v ethanolu. Pro detekci antioxidačního efektu extraktů z rostlin byly zvoleny dva vzorky poskytnuté firmou Favéa, spol. s r.o. (Kopřivnice, Česká republika) – extrakt z *Magnolia officinalis* a extrakt VinOserae. Oba vzorky (v práškovém stavu) byly rozpuštěny v destilované vodě. Citronela (*Cymbopogon citratus*), prodáváná jako výživový doplněk pro přípravu čaje, byla zakoupena u firmy Diocchi, spol. s r.o. (Praha, Česká republika). Čajový extrakt byl připraven smícháním dvou čajových lžiček Citronely s 3/4 litru vody, směs byla 3 min povařena a následně zfiltrována. Agaróza pro elektroforetickou analýzu DNA byla zakoupena u firmy Serva. Pro indukci oxidačního poškození v plasmidové DNA bylo použito H₂O₂ a FeSO₄ · 7 H₂O (Penta, Česká republika). Všechny ostatní chemikálie byly užity v čistotě p.a. Plasmid DNA pBluescript II SK (–) byl získán z BFÚ AV ČR, v.v.i. (Brno, Česká republika).

Metody

Do mikrozkušavky o objemu 1,5 ml bylo pipetováno 0,5 µl plasmidu DNA, 1 µl 1M roztoku Tris-HCl (pH 8,0), 1 µl 3% H₂O₂ (s výjimkou kontroly DNA), 1 µl 1mM roztoku FeSO₄ · 7 H₂O (mimo kontrolu DNA a kontrolu účinku samotného peroxidu vodíku na DNA) a 0,5–2 µl roztoku testované látky o příslušné koncentraci. Objem směsi byl doplněn na konečných 10 µl destilovanou vodou. Reakční směs byla inkubována 30 min při 37 °C.

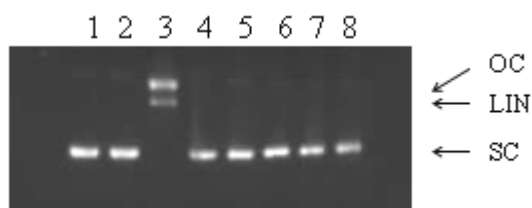
Pro inkubaci bylo k reakční směsi přidáno 2,5 µl nanášecího pufru (směs obsahující: 0,25 % bromfenolová modř; 0,25 % xylencyanolová modř a 40 % sacharosa).

Analýza změn v konformaci DNA byla sledována agarózovou gelovou elektroforézou (1% agaróza, $1 \times$ TAE pufr, 7 V/cm, 80 min, pokojová teplota). Po skončení elektroforézy byly gely ponechány po dobu 30 min v roztoku ethidium bromidu ($1 \mu\text{g ml}^{-1}$) a následně 30 min odbarvovány v destilované vodě. Gely byly fotografovány pod UV světlem pomocí transiluminátoru GeneGenius (SynGene, Velká Británie).

Výsledky a diskuse

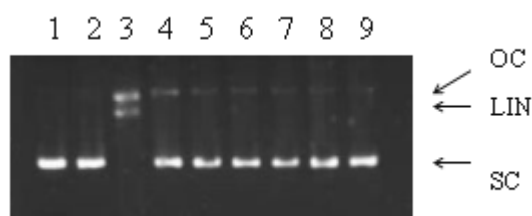
Studium antioxidantních efektů fenolových látek na DNA spočívalo ve sledování konformačních změn plasmidové DNA gelovou elektroforézou. Metoda je založena na rozdílné elektroforetické mobilitě jednotlivých topologických forem DNA. Důsledkem oxidačního poškození DNA na úrovni cukr-fosfátového řetězce je vznik zlomů v superhelikální kruhové (SC) formě DNA. Vzniká buď otevřená kruhová (OC) forma v případě jednořetězcových zlomů, nebo forma lineární (LIN), jsou-li zlomy dvouřetězcové. Protektivní účinek testovaných látek byl zjišťován na základě jejich schopnosti inhibovat oxidační poškození DNA indukované peroxidem vodíku v přítomnosti iontů železa.

Roztoky fenolových kyselin (kyselina ferulová, kávová, chlorogenová a galová) byly nejprve otestovány v širším koncentračním rozmezí ($500 \mu\text{M} - 2 \text{ mM}$). U všech čtyř vzorků byla, i při aplikaci nejnižší koncentrace vzorku, detegována schopnost inhibovat tvorbu zlomů v plasmidové DNA. Obrázky 1 a 2 zaznamenávají účinky kyseliny kávové (CA) a kyseliny chlorogenové (CGA) po 30min inkubaci s plasmidem pBluescript, peroxidem vodíku a ionty železa (obrázky gelů ostatních testovaných kyselin v tomto širším koncentračním rozmezí nejsou uvedeny). Jak je vidět z obou gelů, inhibice převedení superhelikální formy (SC) na otevřenou kruhovou (OC) a lineární (LIN) formu DNA byla zjištěna již při koncentraci $500 \mu\text{M}$ (dráha č. 4).

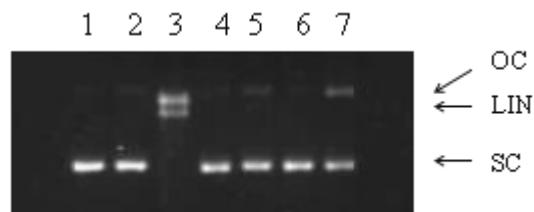


Obr. 1. Efekt kyseliny kávové (CA), H_2O_2 a $100 \mu\text{M Fe}^{2+}$ na plasmid pBS po inkubaci 30 min při 37°C ; dráha 1 představuje kontrolu DNA; dráha 1 – DNA; dráha 2 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2$; dráha 3 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$; dráha 4 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 500 \mu\text{M CA}$; dráha 5 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 750 \mu\text{M CA}$; dráha 6 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 1 \text{ mM CA}$; dráha 7 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 1,5 \text{ mM CA}$; dráha 8 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 2 \text{ mM CA}$

Vzorky fenolových kyselin byly po tomto pilotním testu dále ředěny a otestovány v koncentračním rozmezí $50-200 \mu\text{M}$. Obr. 3 shrnuje výsledky detekce antioxidantní aktivity čtyř zkoumaných fenolových kyselin v jednom gelu, kdy byly současně testovány roztoky kyselin o koncentraci $100 \mu\text{M}$. Všechny testované látky inhibovaly vznik jedno i dvouřetězcových zlomů v plasmidové DNA (dráhy č. 4 až 7; dráha č. 3 – oxidační poškození DNA – formy OC a LIN indukované $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$). Nejslabší protektivní efekt byl detegován u kyseliny galové (dráha č. 7). Antioxidantní efekt kyseliny galové a kyseliny kávové s účinkem částečné inhibice poškození DNA hydroxylými radikály byl také detegován s využitím plasmidu pBR322 DNA (cit.^{6,7}). Jako příklad antioxidantního efektu fenolové kyseliny projevujícího se již při nízkých koncentracích ($10-20 \mu\text{M}$) jsou na obr. 4 uvedeny výsledky testu s kyselinou ferulovou (FA). Již při aplikaci $10 \mu\text{M}$ vzorku došlo ke snížení tvorby otevřené kruhové a lineární formy DNA (dráha č. 4). Výrazná inhibice zlomů v DNA, indu-



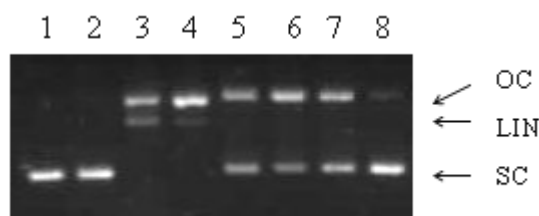
Obr. 2. Efekt kyseliny chlorogenové (CGA), H_2O_2 a $100 \mu\text{M Fe}^{2+}$ na plasmid pBS po inkubaci 30 min při 37°C ; dráha 1 představuje kontrolu DNA; dráha 1 – DNA; dráha 2 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2$; dráha 3 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$; dráha 4 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 500 \mu\text{M CGA}$; dráha 5 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 750 \mu\text{M CGA}$; dráha 6 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 1 \text{ mM CGA}$; dráha 7 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 1,25 \text{ mM CGA}$; dráha 8 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 1,5 \text{ mM CGA}$; dráha 9 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 2 \text{ mM CGA}$



Obr. 3. Efekt kyseliny kávové (CA), ferulové (FA), chlorogenové (CGA) a galové (GA), v přítomnosti peroxidu vodíku a $100 \mu\text{M Fe}^{2+}$, na plasmid pBS po inkubaci 30 min při 37°C ; dráha 1 představuje kontrolu DNA; dráha 1 – DNA; dráha 2 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2$; dráha 3 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$; dráha 4 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 100 \mu\text{M CA}$; dráha 5 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 100 \mu\text{M FA}$; dráha 6 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 100 \mu\text{M CGA}$; dráha 7 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 100 \mu\text{M GA}$



Obr. 4. Efekt kyseliny ferulové (FA), H_2O_2 a $100 \mu\text{M Fe}^{2+}$ na plasmid pBS po inkubaci 30 min při 37°C ; dráha 1 představuje kontrolu; dráha 1 – DNA; dráha 2 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2$; dráha 3 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$; dráha 4 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 10 \mu\text{M FA}$; dráha 5 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 12,5 \mu\text{M FA}$; dráha 6 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 15 \mu\text{M FA}$; dráha 7 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 17,5 \mu\text{M FA}$; dráha 8 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + 20 \mu\text{M FA}$



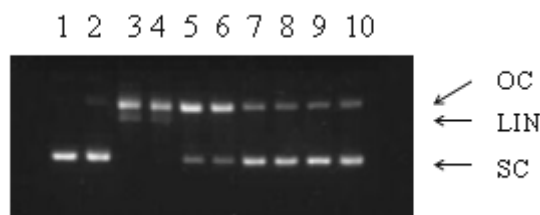
Obr. 5. Efekt vzorku Magnolie (MO), H_2O_2 a $100 \mu\text{M Fe}^{2+}$ na plasmid pBS po inkubaci 30 min při 37°C ; dráha 1 představuje kontrolu DNA; dráha 1 – DNA; dráha 2 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2$; dráha 3 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$; dráha 4 až 8 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + \text{MO}$ (4: $0,6 \mu\text{g}$; 5: $1 \mu\text{g}$; 6: $1,5 \mu\text{g}$; 7: $2 \mu\text{g}$; 8: $3 \mu\text{g}$)

kovaných peroxidem vodíku za přítomnosti iontů železa, byla zjištěna v rozmezí koncentrací $15\text{--}20 \mu\text{M}$ (dráha č. 6 až 8). Některé studie upozorňují na to, že fenolové kyseliny mohou za určitých podmínek, např. v přítomnosti Cu^{2+} , vykazovat prooxidační účinky^{6,8,9}. Výsledky této studie ukázaly, že samotné fenolové kyseliny, a to ani ve vyšších koncentracích $100 \mu\text{M}$, ani v přítomnosti $100 \mu\text{M Fe}^{2+}$, neindukovaly žádné signifikantní změny v topologii plasmidové DNA.

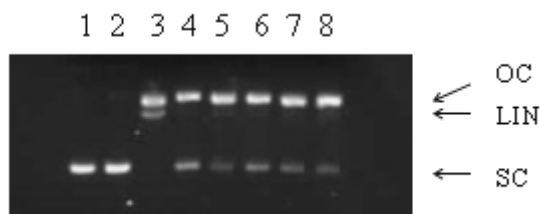
Dále byly testovány tři vzorky rostlinných extraktů; extrakt z *Magnolia officinalis*, extrakt VinOserae a extrakt Citronela (*Cymbopogon citratus*), u nichž byl předpokládán možný antioxidační efekt. *Magnolia officinalis* patří k rostlinám, které jsou řadu let využívány v čínské medicíně^{10,11}. Bylo zjištěno, že biologicky aktivními složkami kůry magnolie jsou látky magnolol a honokiol¹². Uvádí se, že látka honokiol se vyznačuje silnou antioxidační aktivitou v biologických systémech¹³ a antioxidační aktivita honokiolu je $1000\times$ větší než vitamínu E (cit.¹⁴). Obr. 5 zaznamenává výsledky detekce působení extraktu Magnolia vzhledem k inhibici oxidačního poškození DNA. Vzo-

rek byl otestován v koncentračním rozmezí $0,6\text{--}6 \mu\text{g}$, v objemu $10 \mu\text{l}$ reakční směsi. U nejnižší dávky $0,6 \mu\text{g}$ vzorku (dráha č. 4) nebyl zjištěn žádný protektivní účinek testované látky, při aplikaci $1\text{--}3 \mu\text{g}$ vzorku (dráhy č. 5 až 8) byla detegována částečná inhibice tvorby zlomů v DNA, nejvýraznější inhibice indukce zlomů v DNA byla zjištěna při aplikaci $3 \mu\text{g}$ vzorku (dráha č. 8). Zajímavým zjištěním bylo, že při dalším zvyšování koncentrace testované látky již nedocházelo ke zvyšování inhibice poškození DNA, naopak, místo antioxidačního efektu, byla zaznamenána zvýšená indukce tvorby otevřené kruhové (OC) formy DNA.

Obr. 6 a 7 ukazují výsledky testování vzorků extraktů VinOserae a Citronely. Extrakt VinOserae obsahuje řadu látek s antioxidačními vlastnostmi, včetně fenolových kyselin, t-resveratrolu, antokyanidinů a proantokyanidinů. Tento extrakt byl otestován v koncentračním rozmezí $0,2$ až $4 \mu\text{g}$, v objemu $10 \mu\text{l}$ reakční směsi (obr. 6). Při aplikaci nejnižší dávky $0,2 \mu\text{g}$ nebyla zaznamenána žádná inhibice tvorby zlomů v DNA (dráha č. 4). Protektivní účinek testované látky byl zjištěn po aplikaci dávky $0,5 \mu\text{g}$ vzorku (dráha č. 5). Nejvýraznější efekt inhibice oxidačního poškození DNA byl detegován v drahách č. 7 až 10 při aplikaci $1,5\text{--}4 \mu\text{g}$ vzorku.



Obr. 6. Efekt vzorku VinOserae (VO), H_2O_2 a $100 \mu\text{M Fe}^{2+}$ na plasmid pBS po inkubaci 30 min při 37°C ; dráha 1 představuje kontrolu DNA; dráha 1 – DNA; dráha 2 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2$; dráha 3 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$; dráha 4 až 10 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + \text{VO}$ (4: $0,2 \mu\text{g}$; 5: $0,5 \mu\text{g}$; 6: $1 \mu\text{g}$; 7: $1,5 \mu\text{g}$; 8: $2 \mu\text{g}$; 9: $3 \mu\text{g}$; 10: $4 \mu\text{g}$)



Obr. 7. Efekt vzorku Citronely (CC), H_2O_2 a $100 \mu\text{M Fe}^{2+}$ na plasmid pBS po inkubaci 30 min při 37°C ; dráha 1 představuje kontrolu DNA; dráha 1 – DNA; dráha 2 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2$; dráha 3 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$; dráha 4 až 8 – DNA + $0,3\% \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} + \text{CC}$ (4: 10% ; 5: 20% ; 6: 30% ; 7: 40% ; 8: 50%)

Obr. 7 ukazuje výsledky testování čajového extraktu tropické trávy Citronely. *Cymbopogon citratus* obsahuje až 1 % silice, která obsahuje antimikrobiální citral, myrcen, limonen a geraniol. Dále obsahuje Citronela látky s antioxidačními účinky, např. kyselinu chlorogenovou a kyselinu kávovou. Pro detekci možného antioxidačního efektu čajového extraktu byl vzorek otestován v koncentračním rozmezí 10–50 % roztoku vzorku. Jak je vidět z obr. 7, inhibice tvorby zlomů v DNA byla zjištěna u všech zkoumaných koncentrací testovaného vzorku (dráhy č. 4 až 8).

Závěr

U všech čtyř testovaných fenolových kyselin (ferulové, kávové, chlorogenové a galové) byl elektroforetickou detekcí strukturálních změn v řetězci plasmidové DNA zjištěn výrazný efekt inhibice oxidačního poškození DNA indukovaného peroxidem vodíku za přítomnosti iontů železa. Na základě těchto výsledků bylo potvrzeno, že jde o látky s antioxidačními účinky. S využitím plasmidu pBluescript byl také detegován antioxidační efekt tří rostlinných extraktů (extrakt *VinOserae*, Citronela a *Magnolia officinalis*). Analýza změn v konformaci plasmidové DNA prokázala, že všechny tři zkoumané extrakty mají protektivní antioxidační účinky. Zjištěné výsledky poukazují na využitelnost metody sledování změn topologického stavu plasmidové DNA pomocí gelové elektroforézy pro hodnocení antioxidační aktivity látek nacházejících se v rostlinách.

Seznam použitých zkratk

| | |
|-----|--|
| CA | kyselina kávová (caffeic acid) |
| CC | extrakt Citronela (<i>Cymbopogon citratus</i>) |
| CGA | kyselina chlorogenová (chlorogenic acid) |
| FA | kyselina ferulová (ferulic acid) |
| GA | kyselina galová (gallic acid) |
| LIN | lineární forma DNA |
| MO | extrakt z <i>Magnolia officinalis</i> |
| OC | otevřená kruhová forma DNA |
| pBS | plasmid pBluescript |
| SC | superhelikální kruhová forma DNA |
| TAE | Tris-acetátový pufr |
| VO | extrakt <i>VinOserae</i> |

LITERATURA

1. Cai Y., Sun M., Xing J., Luo Q., Corke H.: *Life Sci.* 78, 2872 (2006).
2. Racek J.: *Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění*. Galén, Praha 2003.

3. Štípek S., Borovanský J., Čejková J., Homolka J., Klener P., Lukáš M., Špičák J., Tesář V., Zeman M., Zima T., Žák A.: *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*. Grada Publishing, Praha 2000.
4. Zheng L., Dai F., Zhou B., Yang L., Liu Z.: *Food Chem. Toxicol.* 46, 149 (2008).
5. Hadi S. M., Asad S. F., Singh S., Ahmad A.: *IUBMB Life* 50, 167 (2000).
6. Khan N. S., Ahmad A., Hadi S. M.: *Chem.-Biol. Interact.* 125, 177 (2000).
7. Ueda J., Saito N., Shimazu Y., Ozawa T.: *Arch. Biochem. Biophys.* 333, 377 (1996).
8. Khan N. S., Hadi S. M.: *Mutagenesis* 13, 271 (1998).
9. Sakihama Y., Cohen M. F., Grace S. C., Yamasaki H.: *Toxicology* 177, 67 (2002).
10. Wang X., Wang Y., Geng Y., Li F., Zheng Ch.: *J. Chromatogr., A* 1036, 171 (2004).
11. Li N., Song Y., Zhang W., Wang W., Chen J., Wong A. W., Roberts A.: *Regul. Toxicol. Pharm.* 49, 154 (2007).
12. Bang K. H., Kim Y. K., Min B. S., Na M. K., Rhee Y. H., Lee J. P., Bae K. H.: *Arch. Pharmacol. Res.* 23, 46 (2000).
13. Park E. J., Zhao Y. Z., Na M., Bae K., Kim Y. H., Lee B. H., Sohn D. H.: *Planta Med.* 69, 33 (2003).
14. Chiu J. H., Ho C. T., Wei Y. H., Lui W. Y., Hong C. Y.: *Life Sci.* 61, 1961 (1997).

Z. Rybková and K. Malachová (Department of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Ostrava, Ostrava): The Use of Plasmid pBluescript for Detection of Antioxidative Activity of Plant Phenolics

Phenolics occurring in fruits and vegetables show a wide range of biological activities such as antioxidative, antimutagenic, anticancerogenic and antibacterial ones. The aim of the work was to detect the effect of compounds with promising antioxidative effects on plasmid DNA strand breakage. The method using plasmid pBluescript based on different electrophoretic mobilities of different topological forms of DNA. DNA strand breaks were measured by conversion of the supercoiled form to open and linear forms. In this study, a possible antioxidative effect was investigated of phenolics on DNA damage induced by Fe^{2+} /hydrogen peroxide. The breaks in plasmid DNA exposed to four phenolic acids (ferulic, caffeic, chlorogenic and gallic) and to three plant extracts (from *VinOserae*TM, *Cymbopogon citratus* and *Magnolia officinalis*) were analyzed. Successful use of plasmid DNA as a suitable model system for detection of antioxidative activity of plant compounds is documented.