

SUPPLEMENTARY FILES

Ruta chalepensis L. *in vitro* cultures as a source of bioactive furanocoumarins and furoquinoline alkaloids

I. HPLC ANALYSIS

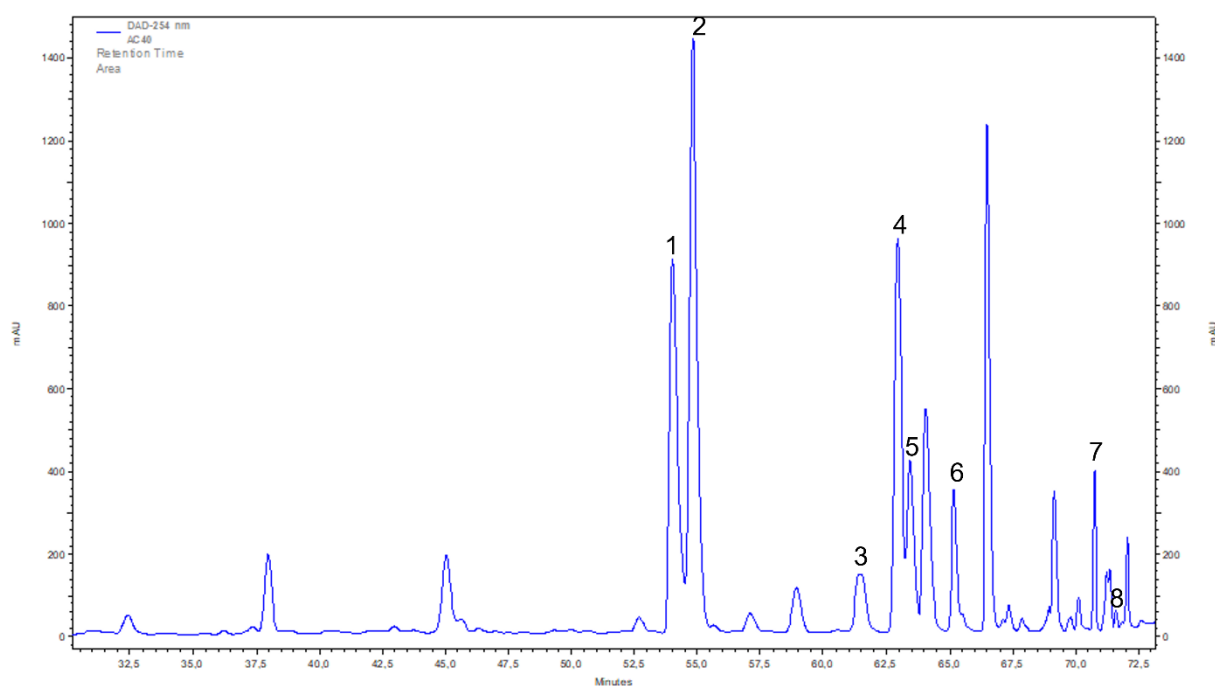


Figure S1 Sample chromatogram of the extract from *Ruta chalepensis* *in vitro* cultures (LS NAA/BAP 0.1/0.1 mg/L medium, 5-week growth cycle) 1. psoralen, 2. xanthotoxin, 3. isopimpinellin, 4. skimmianine, 5. bergapten, 6. γ -fagarine, 7. isoimperatorin, 8. 7-isopentenylxy- γ -fagarine

2. STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analysis of the content of individual secondary metabolites and comparison of homogeneous groups. Two-way analysis of variance (ANOVA), NIR poshoc test, dependent variable - metabolite content [mg/100 g DW], independent variables - culture cycle (4, 5 weeks) and LS medium variant (NAA/BAP 0.5/1.0, 0.1/0.1, 1.0/1.0 mg/L).

Xanthotoxin

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 1638,3, df = 12,000								
Nr podkl.	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	592,57	603,96	375,43	425,23	486,72	444,87
2	4	0,1/0,1	0,736191	0,736191	0,000027	0,000278	0,007591	0,000767
3	4	1,0/1,0	0,000027	0,000016	0,000016	0,000158	0,004013	0,000423
4	5	0,5/1	0,000278	0,000158	0,157745	0,157745	0,005598	0,057434
5	5	0,1/0,1	0,007591	0,004013	0,005598	0,087480	0,087480	0,563313
6	5	1,0/1,0	0,000767	0,000423	0,057434	0,563313	0,229473	0,229473

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 1638,3, df = 12,000						
Nr podkl.	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2	3
3	4	1,0/1,0	375,4320	****		
4	5	0,5/1	425,2270	****	****	
6	5	1,0/1,0	444,8696	****	****	
5	5	0,1/0,1	486,7153		****	
1	4	0,5/1	592,5681			****
2	4	0,1/0,1	603,9641			****

Bergapten

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 162,02, df = 12,000								
Nr podkl.	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	244,76	196,89	135,81	136,17	129,81	147,85
2	4	0,1/0,1	0,000605	0,000605	0,000000	0,000000	0,000000	0,000001
3	4	1,0/1,0	0,000000	0,000075	0,000075	0,000079	0,000031	0,000498
4	5	0,5/1	0,000000	0,000079	0,973043	0,973043	0,574291	0,269432
5	5	0,1/0,1	0,000000	0,000031	0,574291	0,551969	0,551969	0,283241
6	5	1,0/1,0	0,000001	0,000498	0,269432	0,283241	0,108256	0,108256

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 162,02, df = 12,000						
Nr podkl.	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2	3
5	5	0,1/0,1	129,8126	****		
3	4	1,0/1,0	135,8144	****		
4	5	0,5/1	136,1730	****		
6	5	1,0/1,0	147,8486	****		
2	4	0,1/0,1	196,8916		****	
1	4	0,5/1	244,7564			****

Isopimpinellin

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 69,025, df = 12,000								
Nr podkl.	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	54,973	55,655	75,578	29,086	36,366	84,482
2	4	0,1/0,1	0,921559	0,921559	0,010323	0,002456	0,017834	0,000945
3	4	1,0/1,0	0,010323	0,012444	0,012444	0,002047	0,014800	0,001129
4	5	0,5/1	0,002456	0,002047	0,000018	0,000018	0,000087	0,213894
5	5	0,1/0,1	0,017834	0,014800	0,000087	0,304268	0,304268	0,000003
6	5	1,0/1,0	0,000945	0,001129	0,213894	0,000003	0,000013	0,000013

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 69,025, df = 12,000						
Nr podkl.	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2	3
4	5	0,5/1	29,08603	****		
5	5	0,1/0,1	36,36648	****		
1	4	0,5/1	54,97331		****	
2	4	0,1/0,1	55,65548		****	
3	4	1,0/1,0	75,57795			****
6	5	1,0/1,0	84,48151			****

Psoralen

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 709,29, df = 12,000								
Nr podkl.	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	222,29	217,83	125,88	208,31	218,54	119,58
2	4	0,1/0,1	0,840918	0,840918	0,000816	0,532554	0,866071	0,000494
3	4	1,0/1,0	0,000816	0,001172	0,001172	0,669515	0,974361	0,000704
4	5	0,5/1	0,532554	0,669515	0,002573	0,002573	0,001105	0,776756
5	5	0,1/0,1	0,866071	0,974361	0,002573	0,646558	0,646558	0,001524
6	5	1,0/1,0	0,000494	0,000704	0,776756	0,001524	0,000665	0,000665

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 709,29, df = 12,000					
Nr podkl.	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2
6	5	1,0/1,0	119,5755		****
3	4	1,0/1,0	125,8819		****
4	5	0,5/1	208,3138	****	
2	4	0,1/0,1	217,8275	****	
5	5	0,1/0,1	218,5411	****	
1	4	0,5/1	222,2878	****	

Isoimperatorin

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 44,954, df = 12,000								
Nr podkl.	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	54,460	50,284	43,587	42,092	49,614	50,564
2	4	0,1/0,1	0,460295	0,460295	0,070350	0,043264	0,393404	0,490253
3	4	1,0/1,0	0,070350	0,244713	0,244713	0,160359	0,904580	0,960063
4	5	0,5/1	0,043264	0,160359	0,789320		0,292569	0,226654
5	5	0,1/0,1	0,393404	0,904580	0,292569	0,194548	0,194548	0,147672
6	5	1,0/1,0	0,490253	0,960063	0,226654	0,147672	0,865100	0,865100

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 44,954, df = 12,000					
Nr podkl.	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2
4	5	0,5/1	42,09158	****	
3	4	1,0/1,0	43,58737	****	****
5	5	0,1/0,1	49,61368	****	****
2	4	0,1/0,1	50,28395	****	****
6	5	1,0/1,0	50,56385	****	****
1	4	0,5/1	54,46002		****

Total furanocoumarins

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 5586,8, df = 12,000								
Nr podkl.	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	1169,0	1124,6	756,29	840,89	921,05	847,34
2	4	0,1/0,1	0,480636	0,480636	0,000020	0,000166	0,001572	0,000197
3	4	1,0/1,0	0,000020	0,000059	0,000059	0,000561	0,005935	0,000674
4	5	0,5/1	0,000020	0,000059	0,190904	0,190904	0,019322	0,161555
5	5	0,1/0,1	0,000166	0,000561	0,190904	0,213594	0,213594	0,917607
6	5	1,0/1,0	0,001572	0,005935	0,019322	0,213594		0,250392
			0,000197	0,000674	0,161555	0,917607	0,250392	

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 5586,8, df = 12,000						
Nr podkl.	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2	3
3	4	1,0/1,0	756,294	****		
4	5	0,5/1	840,891	****	****	
6	5	1,0/1,0	847,339	****	****	
5	5	0,1/0,1	921,049		****	
2	4	0,1/0,1	1124,623			****
1	4	0,5/1	1169,046			****

Skimmianine

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 118,61, df = 12,000								
Nr podkl.	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	143,18	122,44	74,305	192,64	291,59	213,53
2	4	0,1/0,1	0,037861	0,037861	0,000005	0,000124	0,000000	0,000004
3	4	1,0/1,0	0,000005	0,000157	0,000157	0,000004	0,000000	0,000000
4	5	0,5/1	0,000124	0,000004	0,000000	0,000000	0,000000	0,036768
5	5	0,1/0,1	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000	0,000001
6	5	1,0/1,0	0,000004	0,000000	0,000000	0,036768	0,000001	

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 118,61, df = 12,000									
Nr podkl.	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2	3	4	5	6
3	4	1,0/1,0	74,3046	****					
2	4	0,1/0,1	122,4374		****				
1	4	0,5/1	143,1838			****			
4	5	0,5/1	192,6365				****		
6	5	1,0/1,0	213,5264					****	
5	5	0,1/0,1	291,5940						****

γ-fagarine

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 327,48, df = 12,000								
Nr podkl.	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	135,44	186,88	124,47	98,968	143,84	136,73
2	4	0,1/0,1	0,004537	0,004537	0,472114	0,029574	0,580184	0,932002
3	4	1,0/1,0	0,472114	0,001182	0,001182	0,000067	0,013018	0,005329
4	5	0,5/1	0,029574	0,000067	0,109960	0,109960	0,010331	0,025202
5	5	0,1/0,1	0,580184	0,013018	0,214419	0,010331		0,638921
6	5	1,0/1,0	0,932002	0,005329	0,422985	0,025202	0,638921	

Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 327,48, df = 12,000						
Nr podkl.	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2	3
4	5	0,5/1	98,9683		****	
3	4	1,0/1,0	124,4725	****	****	
1	4	0,5/1	135,4423	****		
6	5	1,0/1,0	136,7298	****		
5	5	0,1/0,1	143,8421	****		
2	4	0,1/0,1	186,8777			****

7-isopentenyloxy- γ -fagarine

Nr podkl.	Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 2,8911, df = 12,000							
	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	13,249	16,786	0,139223	0,882300	0,987788	0,139060
2	4	0,1/0,1	0,025583	0,025583	0,354215	0,019354	0,024858	0,354559
3	4	1,0/1,0	0,139223	0,354215		0,108317	0,135706	0,999441
4	5	0,5/1	0,882300	0,019354	0,108317		0,894377	0,108186
5	5	0,1/0,1	0,987788	0,024858	0,135706	0,894377		0,135547
6	5	1,0/1,0	0,139060	0,354559	0,999441	0,108186	0,135547	

Nr podkl.	Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 2,8911, df = 12,000					
	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2	
4	5	0,5/1	13,03901	****		
5	5	0,1/0,1	13,22728	****		
1	4	0,5/1	13,24898	****		
3	4	1,0/1,0	15,44778	****	****	
6	5	1,0/1,0	15,44877	****	****	
2	4	0,1/0,1	16,78568			****

Total furoquinoline alkaloids

Nr podkl.	Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Prawdopodobieństwa dla testów post-hoc Błąd: MS międzygrupowe = 556,35, df = 12,000							
	week	LS medium variant	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}
1	4	0,5/1	291,88	326,10	214,22	304,64	448,66	365,70
2	4	0,1/0,1	0,100877	0,100877	0,001663	0,519859	0,000003	0,002380
3	4	1,0/1,0	0,001663	0,000084	0,000084	0,287040	0,000036	0,062164
4	5	0,5/1	0,519859	0,287040	0,000519	0,000519	0,000000	0,000004
5	5	0,1/0,1	0,000003	0,000036	0,000000	0,000007	0,000007	0,008061
6	5	1,0/1,0	0,002380	0,062164	0,000004	0,008061	0,001018	0,001018

Nr podkl.	Test NIR; zmienna mg/100 g DM (rch Rity publ Life do statystyki) Grupy jednorodne, alfa = ,05000 Błąd: MS międzygrupowe = 556,35, df = 12,000							
	week	LS medium variant	mg/100 g DM Średnie	1	2	3	4	
3	4	1,0/1,0	214,2248			****		
1	4	0,5/1	291,8751	****				
4	5	0,5/1	304,6438	****				
2	4	0,1/0,1	326,1008	****	****			
6	5	1,0/1,0	365,7049		****			
5	5	0,1/0,1	448,6634					****