



Simple and Rapid Method for Simultaneous Determination of Eleven Nucleosides and Nucleobases in Medicinal Macrofungus *Cordyceps taii*

Ru-Ming LIU¹, Xiao-Jie ZHANG¹, Xiao-Fei LI¹, Jian-Hui XIAO^{1*}, & Jian-Jiang ZHONG^{2*}

¹ Division of Microbial Resources and Drug Development, Key Laboratory of Cell Engineering of Guizhou Province, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, 149 Dalian Road, Zunyi 563000, PR China

² State Key Laboratory of Microbial Metabolism, and School of Life Science & Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, PR China

SUMMARY. Determination of nucleosides is important for the quality control of *Cordyceps* species due to their physiological and pharmacological actions. Herein, a simple and rapid reversed-phase high performance liquid chromatography-photodiode array detection (RP-HPLC-DAD) method was developed for simultaneous determination of eleven nucleosides, *i.e.* uracil, cytidine, uridine, inosine, guanosine, adenine, thymine, adenosine, 2'-deoxyuridine, 2'-deoxyadenosine, and 3'-deoxyadenosine. The separation was performed on a Shimadzu VP-ODS column (4.6 × 250 mm *i.d.* 5 μm) using a gradient elution with a methanol/water mobile phase in 14 min. The calibration curves of 11 analytes showed good linearity with high correlation coefficients ($R^2 > 0.9997$) within the test ranges. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) of 11 analytes were less than 0.01 μg/mL. The overall relative standard deviations for intra- and inter-day were lower than 2.7 and 5.0%, respectively. Under the developed method, it was found adenosine was the most abundant nucleoside, and two unique nucleosides, *i.e.* 2'-deoxyuridine, and 2'-deoxyadenosine were detected in cultured medicinal macrofungus *C. taii*. This work demonstrated that the developed method has been successfully applied for the rapid analysis of nucleosides in cultured *Cordyceps*, and is expected to be used for the quality control of related pharmaceutical products.

RESUMEN. La determinación de nucleósidos es importante para el control de calidad de especies de *Cordyceps* debido a sus acciones fisiológicas y farmacológicas. Aquí, un método sencillo y rápido de cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa con arreglo de fotodiodos (RP-HPLC-DAD) fue desarrollado para la determinación simultánea de once nucleósidos, es decir, uracilo, citidina, uridina, inosina, guanosina, adenina, timina, adenosina, 2'-desoxiuridina, 2'-desoxiadenosina y 3'-desoxiadenosina. La separación se realizó en una columna Shimadzu VP-ODS (4,6 × 250 mm ID 5 μm) usando un gradiente de elución con una fase móvil de metanol / agua en 14 min. Las curvas de calibración de 11 analitos mostraron buena linealidad con altos coeficientes de correlación ($R^2 > 0,9997$) dentro de los rangos de la prueba. Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de 11 analitos fueron menores a 0,01 g/mL. Las desviaciones estándar generales relativos de intra e inter día fueron inferiores a 2,7 y 5,0%, respectivamente. Bajo el método desarrollado, se encontró que la adenosina fue el nucleósido más abundante y dos nucleósidos únicos, 2'-desoxiuridina, y 2'-desoxiadenosina se detectaron en cultivo medicinal del macrohongo *C. taii*. Este trabajo demostró que el método desarrollado se ha aplicado con éxito para el análisis rápido de nucleósidos en cultivos de *Cordyceps* y se espera que se utilice para el control de calidad de productos farmacéuticos relacionados.

KEY WORDS: RP-HPLC-DAD; *Cordyceps*; Nucleosides; Quantitative detection

* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mails: jhxiao@yahoo.com (J.-H. Xiao); jjzhong@sjtu.edu.cn (J.-J. Zhong)