

Procedimiento para la detección e identificación de esteroides anabólicos, β_2 -agonistas, estimulantes y narcóticos

Dayamín Martínez Brito y Margarita Teresa Correa Vidal.

Instituto de Medicina del Deporte, Laboratorio Antidoping, Departamento Analítico, Calle 100 y Aldabó, Ciudad de La Habana, Código Postal 10800, Cuba. Correo electrónico: antidop@inder.cu

Recibido: 17 de julio de 2006. Aceptado: 21 de mayo de 2007.

Palabras clave: esteroides anabólicos, control del dopaje, control de la calidad, extracción en fase sólida.
Key words: anabolic steroids, antidoping control, quality control, solid phase extraction.

RESUMEN. Desde la década de los sesentas, las organizaciones internacionales competentes prohibieron el uso de ciertos estimulantes del Sistema Nervioso Central en las competiciones. Los esteroides anabólicos fueron incorporados por la Comisión Médica del Comité Olímpico Internacional en la Lista de Sustancias Prohibidas en el año 1974. Sin embargo, la detección e identificación inequívoca de estos compuestos, se logró exitosamente en la década de los ochentas, con el avance de la tecnología y la incorporación de la Cromatografía Gaseosa acoplada a la Espectrometría de Masas (CG-EM) y el uso de columnas capilares. En el presente trabajo se describe la determinación simultánea de 76 compuestos en orina (esteroides anabólicos, β_2 -agonistas, estimulantes y narcóticos) por CG-EM. Se describe la cuantificación de los esteroides endógenos, lo que permite establecer el perfil normal de esteroides endógenos y determinar cuándo hay desviaciones de él por el uso de esteroides sintéticos. Además, se presenta la preparación de la muestra que incluye separación por extracción en fase sólida, hidrólisis enzimática, extracción líquido-líquido y la formación de derivados trimetilsilil. El análisis instrumental se realiza por el modo de adquisición *monitoreo selectivo de iones*, utilizando la retención relativa al patrón interno y los iones característicos de cada compuesto como elemento de identificación primaria. Los límites de detección alcanzados con el procedimiento, se encuentran entre 2 y 10 ng/mL, requisito establecido por la Agencia Mundial Antidopaje. Se describen los factores críticos que influyen en el proceso de extracción, hidrólisis enzimática, degradación bacteriana de la orina, la evaluación de resultados analíticos y el control interno de calidad.

ABSTRACT. Since the decade of the sixties, the competent international organizations prohibited the use of certain stimulants of the Central Nervous System in the competitions. Anabolic steroids were incorporated to the List of Prohibited Substances in 1974 by the Medical Commission of the International Olympic Committee. However, the detection and unequivocal identification of these compounds was achieved in the decade of the eighties, with the advance of technology and incorporation of the Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS) and the use of capillary columns. The present paper describes the simultaneous determination of 76 compounds in urine (anabolic steroids, β_2 -agonists, stimulants and narcotics) by GC-MS. Quantitation of the endogenous steroids is presented, which allows to establish the normal profiles of endogenous steroids and to determine when there are deviations because of the use of synthetic steroids. Also, sample preparation is presented that includes separation by solid phase extraction, enzymatic hydrolysis, liquid-liquid extraction and the formation of trimethylsilyl derivatives. Instrumental analysis was carried out using selecting ion monitoring mode with relative retention time to the internal standard and the characteristic ions of each compound as elements of primary identification. Reached detection limits were between 2 and 10 ng/mL, requirement established by World Antidoping Agency. Critical factors of the extraction procedure, enzymatic hydrolysis, evaluation of analytical results and the internal quality control were described.

INTRODUCCIÓN

Los esteroides anabólicos fueron incorporados por la Comisión Médica del Comité Olímpico Internacional (COI) en la Lista de Sustancias Prohibidas en el año 1974. La primera técnica empleada para su detección fue la de radioinmunoensayo, la cual no permaneció por mucho tiempo debido a la desventaja de presentar reacciones cruzadas con muchos compuestos estructuralmente similares y que se encuentran fisiológicamente en la orina.¹⁻⁵

La introducción de la Espectrometría de Masas acoplada a la Cromatografía de Gases para la detección e identificación de los esteroides anabólicos realizada por el Prof. M. Donike, indiscutiblemente marcó una nueva etapa en el análisis de muestras para el control doping. Una vez introducido y desarrollado este método, la detección de estos compuestos dejó de constituir un problema para los laboratorios. Esto provocó en los atletas la reacción de sustituir los compuestos exógenos por aquellos que presentan igualmente acción androgénica pero que se excretan de forma fisiológica en la orina. De esta manera, surgió un nuevo reto para los laboratorios.

El primer esteroide endógeno utilizado por los atletas fue la testosterona, después de varios estudios, se observó que con la administración de testosterona, aumentan considerablemente las concentraciones de testosterona, androsterona y etioanolona en forma de conjugados

glucurónidos en la orina entre otros metabolitos de esta hormona. Otra observación de gran importancia fue que la epitestosterona, hormona sin valor androgénico y que se excreta de manera fisiológica en una relación aproximada de 1 : 1 con respecto a la testosterona, se mantiene inalterable luego de una administración de esta última. Es por ello que en 1982, la Comisión Médica del COI (y actualmente la Agencia Mundial Antidopaje, AMA) decide que una relación testosterona/epitestosterona mayor de 6 : 1 sería considerada una violación de las reglas del olimpismo.¹⁻⁷

Estudios posteriores demostraron la influencia que ejercen, sobre el perfil de esteroides endógenos urinarios, la administración de los esteroides anabólicos sintéticos. La administración de estos compuestos (vía oral, parenteral, tópica o cualquier otra) provoca una depresión de las concentraciones de los esteroides endógenos urinarios debido a su acción sobre la homeostasis de la biosíntesis de esteroides y su metabolismo en el organismo humano. Se conoce que luego de una administración a largo plazo de esteroides sintéticos, las concentraciones de los compuestos endógenos urinarios regresan a su nivel basal en un tiempo superior al de la eliminación del esteroide administrado. Este hecho hace de la evaluación del perfil de esteroides urinarios una herramienta útil en el diagnóstico del consumo de esteroides anabólicos.⁶⁻⁷

Los resultados de la aplicación de los métodos analíticos en el labora-

torio imponen una gran responsabilidad debido a las implicaciones que ellos traen aparejadas. Por ello, esos resultados deben ser muy confiables, luego si se tiene en cuenta que los análisis están sometidos a múltiples fuentes de error (tanto evitables como inevitables), entonces, no basta con trabajar con máximo cuidado, sino que cada laboratorio necesita un sistema bien establecido y organizado para controlar permanentemente la precisión y exactitud de sus análisis de manera objetiva.⁸

El presente trabajo describe el montaje de la técnica analítica implementada en el Laboratorio Antidoping de La Habana para la detección e identificación de esteroides anabólicos endógenos, exógenos, β_2 -agonistas, estimulantes y narcóticos, mediante una extracción en fase sólida seguida de una hidrólisis enzimática y una extracción líquido-líquido. Los derivados trimetilsilil de estos compuestos fueron analizados por CG-EM.⁹⁻¹⁸ Se presenta además, cómo se realiza el control interno de la calidad de todo el proceso analítico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

β -Glucuronidasa/tipo K12 *E. coli* (Roche, Alemania); metanol, pureza 99,93 % (SIGMA, Alemania); *tert*-butilmetileter, pureza 99,8 % (SIGMA, Alemania); *N*-metil-*N*-trimetilsililtri-fluoro-acetamida para CG (MSTFA), (SIGMA, Alemania); yoduro de amonio, pureza 100,7 % (SIGMA Chemical, Alemania); 2-mercaptopetanol (Merck, Alemania); colum-

nas de extracción en fase sólida Detectabuse™ (Biochemical Diagnostics, EE. UU.).

En cada lote analítico (25 muestras), se utilizan dos controles positivos. El primero lo constituye un blanco de orina contaminado con los compuestos que se excretan en baja concentración y que el AMA exige su detección hasta 2 ng/mL (metabolito 1 nandrolona, el metabolito 2 de la metiltestosterona, el metabolito 1 del stanozolol, clenbuterol y el metabolito 3 de la metandienona). El segundo, es un blanco de orina contaminado con 29 compuestos que garantizan el control de la retención relativa de los compuestos en general, a detectar (Tabla 1). Los controles negativos utilizados durante el proceso de pesquizado son: un blanco del reactivo empleado para la formación de derivados y un blanco de orina previamente verificado en el que no se encontraron interferencias a los tiempos de retención de los compuestos a identificar en el proceso de pesquizado y dotado de esteroides endógenos en concentraciones bien establecidas. La muestra calibradora empleada contiene 20 esteroides endógenos en concentraciones conocidas y con ayuda del programa empleado es posible calcular mediante factores de respuesta, sus concentraciones en cada una de las muestras analizadas. El patrón interno (PI) utilizado en esta técnica consiste en una mezcla de 17 α -metiltestosterona (50 μ g/mL) y (16,16,17- d_3)-testosterona (5 μ g/mL). Este último, se incorpora con el objetivo de realizar la

Tabla 1. Composición de control positivo 2.

No.	Compuesto	Concentración (ng/mL)	No.	Compuesto	Concentración (ng/mL)
1	6 β -OH metandienona	25	16	Metiltestosterona metabolito 1	25
2	Boldenona PC	25	17	Metiltestosterona metabolito 2	25
3	Boldenona metabolito 1	25	18	Noretandrolona metabolito 1	25
4	Drostanolona metabolito 1	25	19	Oxymesterona	25
5	Fluoximesterona PC	25	20	Clenbuterol	25
6	Furazabol	25	21	Codeína	150
7	Mesterolona metabolito 1	25	22	Etamivan	200
8	Metenolona PC	25	23	Morfina	150
9	Metenolona metabolito 1	25	24	Pemolina	200
10	Nandrolona metabolito 1	25	25	Probenecid	1 000
11	Nandrolona metabolito 2	25	26	Salbutamol	100
12	Estanozolol metabolito 1	25	27	Tetrahidrocannabinol metabolito	15
13	Estanozolol metabolito 2	25	28	Triamtereno	200
14	Mibolona	25	29	Buprenorfina	25
15	Bolasterona metabolito 1	25			

cuantificación de la testosterona y epitestosterona en cada muestra, así como de otros compuestos endógenos que se encuentren en concentraciones similares.

Cada uno de los controles descritos anteriormente es procesado en conjunto con las muestras en cada lote analítico.

El método de extracción consiste en pasar la muestra por una columna de extracción en fase sólida Detectabuse™ previamente activada con 2 mL de metanol y 2 mL de agua desionizada. Después de adicionada la muestra se realiza un lavado con 2 mL de agua desionizada y los compuestos adsorbidos en la columna son eluidos con 2 mL de metanol. Posteriormente, el metanol es evaporado a sequedad y el extracto es reconstituido con 1 mL de disolución reguladora de fosfato pH = 7,0. La hidrólisis se realiza con β -glucuronidasa (*E. coli*), 25 unidades/muestra, a 55 °C durante 1 h. Después de alcanzar la temperatura ambiente, se realiza una extracción líquido-líquido con *tert*-butilmetiléter luego de realizar un ajuste de pH con 250 μ L de K_2CO_3 (5 %). Se separa la fase orgánica y se evapora completamente. La reacción para la formación de derivados trimetilsilil (TMS) se realiza con una mezcla de MSTFA- NH_4I -2-mercaptoetanol (v/m/v) (1 000 : 2 : 6). Los compuestos *bis*-O-TMS, *tris*-O-TMS y *tetrakis*-O-TMS son formados en dependencia del número de grupos funcionales que presenta cada compuesto, capaces de reaccionar con el grupo TMS.

Equipos

Vortex mixer M-63210-33 (Thermolyne, EE. UU.); zaranda 260300F (Boekel, EE. UU.); centrífuga (Fisher Scientific, EE. UU.); bomba de vacío 400-1901 (Barnant, EE. UU.); termostato seco de 36 plazas (Pierce, EE. UU.); baño con termostato GP-100 (Neslab, EE. UU.); procesador de extracción sólido-líquido (Supelco, EE. UU.); cromatógrafo de gases HP 6890 acoplado a espectrómetro de masas cuadrupolar HP 5973 con inyector automático serie 7683 y computadora HP Vectra VL (Hewlett Packard, EE. UU.). Condiciones cromatográficas: columna capilar HP-1 (metilsiloxano; 17 m; diámetro interior 0,20 mm; grosor de la fase estacionaria 0,11 μ m); inyector a 280 °C; modo de inyección: split (relación 10 : 1); volumen de inyección: 2 μ L; gas portador: helio (0,9 mL/min. Flujo constante); programa de temperatura: 180 °C; incrementar a 235 °C con una rampa de

3°C/min; incrementar hasta 310 °C con una rampa de 40 °C/min. Tiempo final de 3 min. Tiempo total de corrida: 23,21 min. El espectrómetro de masas fue operado en el modo de *monitoreo* selectivo de iones (SIM) con un voltaje de ionización de 70 eV; fuente iónica a 230 °C; interface a 280 °C y cuadrupolo a 150 °C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con la utilización de esta técnica es posible detectar en una sola corrida cromatográfica 76 compuestos en su forma de derivados trimetilsilil. La Tabla 2 muestra los compuestos objeto de análisis, así como sus iones diagnóstico en orden decreciente de intensidad y la retención relativa de cada uno de ellos. El empleo del modo de adquisición *monitoreo* selectivo de iones en la técnica de CG-EM permite aumentar la sensibilidad y la posibilidad de pesquisar un gran número de compuestos basándose en la verificación de iones característicos, en una sola corrida.

Control interno de la calidad del proceso

En el control interno de la calidad se tienen en cuenta los factores que influyen en el proceso y que pueden alterar los resultados. Las condiciones del espectrómetro de masas se verifican mediante la autocalibración, la cual es realizada con perfluorotributilamina. Los iones utilizados son m/z 69, 219 y 502 para la calibración en las zonas de masas pequeña, media y elevada respectivamente. Los parámetros verificados son: ancho de los picos cromatográficos de cada uno de los iones, número de picos en el espectro, voltajes del multiplicador y del dispositivo repeleor, la abundancia del pico base (m/z 69), así como la relación con los iones a m/z 219 y 502. Estos parámetros en su conjunto expresan las condiciones en que se encuentra el equipo para la realización del análisis instrumental.

Condiciones de la columna cromatográfica

Para la verificación del estado de la columna capilar se toman como referencia la altura de los picos cromatográficos, en el control positivo, de cuatro compuestos cuyas propiedades cromatográficas son pobres (3' hidroxistanozolol, oxandrolona, fluoximesterona y triamtereno). Para la verificación del proceso de extracción en el lote analítico es evaluado el control positivo que presenta a los compuestos en pequeñas concentraciones (2 ng/mL) y la abundan-

cia del ión m/z 446 correspondiente a la 17 α -metilttestosterona (PI).

Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática es uno de los pasos más importantes dentro del proceso de preparación de la muestra debido a que los esteroides anabólicos, ya sean endógenos o exógenos, se excretan en forma de conjugados (glucurónidos en su mayoría). Por tanto, se hace necesaria la separación del grupo glucurónico de la molécula mediante una hidrólisis al nivel de la posición β de los carbonos 3 y 17 para su análisis instrumental. El control interno de este paso se realiza mediante la utilización de cartas simples de control.

Reacción de formación de derivados

Como toda reacción química su rendimiento es afectado por múltiples factores como son: tiempo, temperatura de reacción y humedad, fundamentalmente. El control de esta reacción se realiza a través de la verificación del monoderivado-*O*-TMS de la androsterona. El área para el ión m/z 272 correspondiente al derivado mono-*O*-TMS de este compuesto no debe exceder del 5 % del área correspondiente al ión m/z 434 de la androsterona *bis*-O-TMS.

En la orina se encuentran una gran cantidad de bacterias propias de la flora. Cuando la muestra no es conservada en condiciones apropiadas se favorece el crecimiento de ellas, tomando como sustrato los propios esteroides endógenos que se encuentran en el medio. Esto trae como consecuencia una alteración del perfil que puede llevar a pensar en un resultado analítico adverso. Para descartar una posible contaminación por estas bacterias es verificada la presencia de 5 α - y 5 β -androstendiona. La presencia de ambos compuestos en la muestra de orina lleva a pensar en una posible contaminación bacteriana, mientras que la existencia de la 5 α -androstendiona solamente, puede llevar a pensar en un consumo de este precursor de la testosterona.

CONCLUSIONES

Esta metodología analítica implementada permite la detección de 76 compuestos en una sola corrida cromatográfica. El uso de controles positivos y negativos garantiza la detección de los compuestos analizados. El sistema de control de cada uno de los pasos establecidos en el procedimiento analítico permite que los resultados obtenidos tengan un alto grado de confiabilidad.

Tabla 2. Compuestos en forma de derivados trimetilsilil, sus iones característicos y su retención relativa con respecto al patrón interno (17 α -metiltestosterona).

Sustancia detectada	Iones	RR	Sustancia detectada	Iones	RR
Terbutalina	356, 86, 426	0,191	Calusterona metabolito	143, 208, 374	0,907
Etamivan	223, 294, 295	0,192	16,16,17-d3Testosterona	435	0,878
Pemolina	178, 105, 392	0,252	Testosterona ⁵	432	0,881
Salbutamol	369, 86, 440	0,233	11 β -hidroxiandrosterona ⁵	522	0,905
Clembuterol	335, 337, 300	0,278	11 β -hidroxietiolanolona ⁵	522	0,923
Metandienona metabolito 4	216, 253, 358	0,393	Bolasterona metabolito 1	374, 284, 143	0,921
Probenecid	328, 342, 257	0,414	Metenolona	195, 208, 446	0,923
Codeína	178, 371, 196	0,583	Clostebol metabolito 1	451, 466, 468	0,925
Nandrolona metabolito 1	422, 405, 420	0,604	Noretandrolona metabolito 1	157, 331, 421	0,928
Androsterona ⁵	272	0,615	Mibolona	431, 301, 446	0,960
Boldenona metabolito 1	194, 417, 432	0,620	17 α -Metiltestosterona (PI)	446, 301	1,000
Metandienona metabolito 3	143, 358, 448	0,622	Clostebol metabolito 2	453, 468, 470	1,003
Nandrolona metabolito 2	315, 405, 420	0,667	Tetrahidrocannabinol metabolito	371, 473, 488	1,017
Morfina	429, 236, 414	0,675	Fenoterol	322,356,412	1,024
Androsterona ⁵	434	0,708	Pregnandiol ⁵	117	1,035
Etiocolanolona ⁵	434	0,720	Danazol metabolito 1	301, 316, 456	1,030
3 α , 5 α -androstandiol ⁵	241	0,726	Oxandrolona	143, 308, 363	1,019
3 α , 5 β -androstandiol ⁵	241	0,738	Pregnantriol ⁵	255	1,074
Drostanolona metabolito 1	343, 433, 448	0,747	Triamtereno	454, 469	1,106
Metenolona metabolito 1	432, 431, 446	0,782	Noretandrolona metabolito 2	245, 331, 421	1,143
Hidroxibromantan	91, 393, 395	0,825	Estriol ⁵	504	1,183
Dehidroepiandrosterona ⁵	432	0,791	Furazabol	143, 387, 402	1,158
Epandrosterona ⁵	434	0,804	Metandienona metabolito 1	317, 517, 532	1,190
Fluoximesterona metabolito 3	208, 357, 462	0,801	Oximesterona	389, 519, 534	1,260
Mesterolona metabolito 1	343, 433, 448	0,811	Danazol metabolito 2	543, 558	1,185
5 α -androstandiona ⁵	432	0,815	Fluoximesterona	143, 552, 462	1,249
Metandiol metabolito 1	143, 345, 435	0,820	Formoterol	178,277,367	1,260
Metiltestosterona metabolito 1	143, 345, 435	0,820	4-Clorometandienona metabolito 1	143, 315, 317	1,301
3 β ,5 α -androstandiol ⁵	421	0,821	Oximetolona metabolito 1	143, 460, 550	1,286
Metiltestosterona metabolito 2	143, 345, 435	0,820	Formebolona metabolito 1	351, 439, 634	1,338
Epitestosterona ⁵	432	0,825	Tetrahidrocortisol ⁵	636	1,347
Trembolona metabolito 1	307, 412	0,839	Furazabol metabolito 1	218, 231, 490	1,354
Estrona ⁵	414	0,838	Estanozolol metabolito 1	254, 545, 560	1,371
Dihidrotestosterona ⁵	434	0,840	Cortisol ⁵	632	1,389
Androstenediona ⁵	430	0,858	Norbuprenorfina	173, 572, 468	1,400
Boldenona	206, 415, 430	0,864	Estanozolol metabolito 2	218, 231, 560	1,465
Estradiol ⁵	416	0,866	Buprenorfina	173, 554, 506	1,424
Mibolona metabolito 1	143, 270, 360	0,867	Salmeterol	262,369	1,415

⁵ Compuestos que se excretan fisiológicamente en la orina. En el análisis instrumental se estiman las concentraciones de cada uno de los compuestos para cada muestra. PI Patrón interno. RR Retención relativa.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Aristides Rosado Pérez por su participación en la revisión del trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Schaenzer W., Metabolism of anabolic androgenic steroids. **Clinical Chemistry**, **42**, 1001-1020, 1996.
- Cowan D.A., Kicman A.T., Doping in sport: Misuse, Analytical Test and Legal Aspects, **Clinical Chemistry**, **43**, 1110-1113, 1997.
- Saugy M., Cardis C., Robinson N. and Schweizer C., Test methods: anabolic, **Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism**, **14**, 111-133, 2000.
- Peng S., Segura J., Farré M., González J.C. and De la Torre X. Plasma and urinary markers of oral testosterone undecanoate misuse, **Steroids**, **67**, 39, 2002.
- Shaenzer W. Detection of exogenous anabolic androgenic steroids, **Drug Abuse Handbook**, Chapter 9.4, 671, 1998.
- Donike M. Steroid profiling in Cologne, 10TH Cologne Workshop on Dope Analysis, 47, 1993.
- Donike M., Rauth S. and Wolansky A. Reference ranges of urinary endogenous steroids determined by gas-chromatography/mass spectrometry,

- 10TH Cologne Workshop on Dope Analysis, 69, 1993
8. Thielman, K. Principios de Metodología en Bioquímica Clínica, capítulo 5, Primera Ed. Editorial Organismos, Instituto Cubano del Libro, 77-83, 1973.
 9. Uralets P. V. and Gillette P.A. Over-the-counter Δ^5 anabolic steroids 5-androsten-3,17-dione; 5-androsten-3 β ,17 β -diol; dehydroepiandrosterone and 19-nor-5-androsten-3,17-dione: excretion studies in men. **Journal of Analytical Toxicology**, **24**, 2000.
 10. Honggang B., Ping D. and Massé R.: Studies on anabolic steroids-8. GC-MS characterization of unusual seco acidic metabolites of oxymetholone in human urine, **J. Steroid Biochem. Molec Biol.** **42**, 229-242, 1992.
 11. De Boer D., Gainza Bernal M.E., Van Ooyen R.D. and Maes R.A. The analysis of trembolone and the human urinary metabolites of trembolone acetate by gas chromatography/mass spectrometry and gas chromatography/tandem mass spectrometry, **Biological Mass Spectrometry**, **20**, 459-466, 1991.
 12. Schaefer W. and Donike M. Metabolism of Boldenone in man: gas chromatographic/mass spectrometric identification of urinary excreted metabolites and determination of excretion rates, **Biological Mass Spectrometry**, **21**, 3-16, 1992.
 13. Crabbe P., Pieraccini G., Bartlouch G., Moneti G. and Van Peteghem C. Influence of *Helix Pomatia* enzyme preparations on the oxidative conversion of some clostebol acetate metabolites in urine, **Journal of Analytical Toxicology**, **26**, 73-80, 2002.
 14. De Boer D., G. de Jong E. and Massé R. The detection of danazol and its significance in doping analysis, **Journal of Analytical Toxicology**, **16**, 14-18, 1992.
 15. De Boer D., G. de Jong E., Massé R. and Van Rossum J.M. The methyl-5 α -dihydrotestosterones mesterolone and drostanolone; gas chromatographic/mass spectrometric characterization of the urinary metabolites, **J. Steroid Biochem. Molec Biol.** **42**, 411-419, 1992.
 16. Taewook K., Ho Cho M., Hwa Jung B. and Chul Chung B. Gas chromatographic/mass spectrometric characterization of dromostanolone metabolites in human urine, **Bull Korean Chem. Soc.**, **19**, 194-196, 1998.
 17. Massé R., Honggang B., Ayotte C., Ping D., Gélinas H. and Dugal R. Studies on anabolic steroids V. Sequential reduction of methandienone and structurally related steroid A-ring substituents in human: gas chromatographic-mass spectrometric study of the corresponding urinary metabolites, **Journal of Chromatography, Biomedical Applications**, **562**, 323-340, 1991.
 18. Massé R., Honggang B. and Ping D. Studies on anabolic steroids VII. Analysis of urinary metabolites of formebolone in man by gas chromatography-mass spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, **247**, 211-221, 1991.



El Grupo de Protección de Materiales Rtester le ofrece servicios especializados contra la corrosión con el fin de elevar la durabilidad, confiabilidad y tiempo de vida útil de los materiales metálicos y no metálicos, recubrimientos, etc. y de los equipos, accesorios e instalaciones construidos y en explotación en Cuba.

SERVICIOS:

- ☑ Evaluación y caracterización de la agresividad corrosiva de la atmósfera de las zonas de interés del cliente: urbana, industrial, industrial-costera y agua de mar.
- ☑ Pronóstico de la resistencia a la corrosión de materiales, instalaciones, piezas, artículos constructivos y otros.
- ☑ Ensayos acelerados naturales (de temperatura-humedad, niebla salina) con regímenes que simulan el clima cubano y las especificaciones de sus diferentes regiones.
- ☑ Selección de materiales con resistencia óptima a la corrosión en el ambiente de Cuba (intemperie, almacenes, agua de mar, etc.).
- ☑ Asesoría técnica y consultoría especializada en corrosión y deterioro de materiales metálicos y no metálicos (pinturas, plásticos, barnices, inhibidores, recubrimientos, etc.).
- ☑ Asistencia a proyectos.
- ☑ Ensayos mediante técnicas electroquímicas de avanzada, seguras y rápidas (curvas de polarización, resistencia de polarización, espectroscopia de impedancia, análisis del ruido electroquímico, entre otras).



Grupo de Protección de Materiales, Dirección de Química, Centro Nacional de Investigaciones Científicas.

Avenida 25 y Calle 158, Playa, Apartado Postal 6414, Ciudad de La Habana, Cuba.

Correo electrónico: abel.castaneda@cnic.edu.cu Telef: (537) 208 4532, (537) 208 5236 extensión 346. Fax: 2080497.