



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 718 930**

⑮ Int. Cl.:

C07D 257/02 (2006.01)

C07F 3/04 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.09.2015 PCT/KR2015/009413**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **24.03.2016 WO16043462**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.09.2015 E 15842251 (9)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2019 EP 3196196**

⑮ Título: **Método de preparación de calcobutrol**

⑩ Prioridad:

17.09.2014 KR 20140123532

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

05.07.2019

⑮ Titular/es:

**ST PHARM CO., LTD. (100.0%)
231, Hyeomnyeok-ro
Siheung-si, Gyeonggi-do 15086, KR**

⑮ Inventor/es:

**LIM, GEUN JHO;
CHANG, SUN KI;
BYEON, CHANG HO;
YOON, HOE JIN y
KIM, MOON SOO**

⑮ Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 718 930 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método de preparación de calcobutrol

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un nuevo procedimiento de preparar calcobutrol. Particularmente, la presente invención se refiere a un procedimiento para preparar calcobutrol altamente puro a través de un proceso simple.

10 **Antecedentes de la técnica**

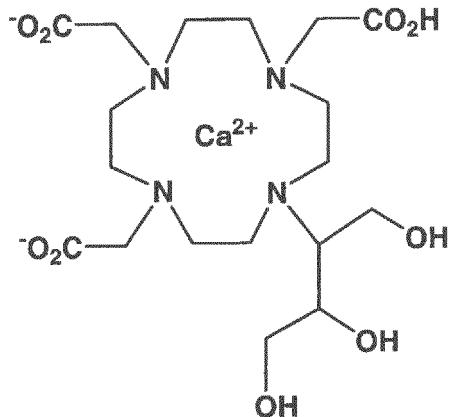
En el campo de los agentes de contraste que contienen gadolinio, el gadobutrol está disponible comercialmente con el nombre comercial de Gadovist o Gadavist en todo el mundo.

15 Gadobutrol es un complejo no iónico de gadolinio (III) y un ligando macrocíclico ácido 10-(2,3-dihidroxi-1-(hidroximetil propil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triacético (butrol), y funciona acortando el tiempo de relajación de los protones en el agua del tejido a las dosis recomendadas clínicamente.

20 Sin embargo, en la mayoría de los agentes de contraste que contienen gadolinio, incluido gadobutrol, se ha sabido que el uso de un exceso de ligando formador de complejos en la forma de un complejo de calcio es favorable. El complejo de calcio desempeña un papel en la prevención de la liberación de gadolinio libre de la formulación (por ejemplo, por almacenamiento durante muchos años a través de la repetición de la formación de complejos con iones extraños derivados del vidrio).

25 El calcobutrol, representado por la Fórmula química 1 a continuación, es un complejo de calcio y ácido 10- (2,3-dihidroxi-1- (hidroximetil propil) -1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triacético (butrol) y puede prevenir la liberación de gadolinio libre a partir de gadobutrol, resolviendo así el problema de la toxicidad de los iones de gadolinio y está contenido como aditivo (sal sódica de calcobutrol) en Gadovist.

30 [Fórmula química 1]



35 La síntesis de calcobutrol se describe con detalle en la literatura (Inorg. Chem. 1997, 36, 6086-6093). Sin embargo, el proceso desvelado en la literatura anterior no proporciona calcobutrol que tenga una alta pureza. Cuando se reproduce fielmente el proceso del Esquema 3 de la literatura anterior, se obtiene un material que tiene una pureza de aproximadamente el 90 % a través de HPLC (fase estacionaria: Hypersil phenyl (5 µm) de SHANDON; fase móvil: tampón acetonitrilo/borato (pH 8) (relación de volumen 20/100); detección: Detector UV (200 nm); volumen de inyección: 10 µl).

40 Mientras tanto, un ligando (butrol) que se puede obtener durante la ruta de síntesis de gadobutrol no se puede purificar a través de la cristalización, lo que hace imposible alcanzar la alta pureza necesaria para transferirlo directamente a un complejo de calcio. Se puede obtener un complejo de gadolinio neutro, a saber gadobutrol, con una pureza muy alta (> 99,7 %) a través de una cristalización muy efectiva después de la purificación en una columna de intercambio iónico después de la reacción de butrol y gadolinio. Sin embargo, el calcobutrol no es fácil de purificar debido a la funcionalidad ácida adicional. Por lo tanto, esa ruta para preparar directamente calcobutrol a partir de butrol se considera inadecuada en términos de pureza. Los procedimientos para obtener butrol se describen en Syn. Comm. 1996, 26 (8), 1595-1603.

45 50 Con el objetivo de resolver el problema anterior, la publicación de solicitud de patente coreana n.º 2011-0058746 desvela un procedimiento para preparar calcobutrol altamente puro, que comprende romper el complejo de

gadobutrol ya obtenido, que sirve como material de partida, eliminar los iones de gadolinio para dar butrol y, a continuación, formar complejo de butrol con calcio. Sin embargo, el procedimiento de la patente anterior es problemático porque el gadobutrol se usa como intermedio en la síntesis de calcobutrol, lo que niega los beneficios económicos y complica el proceso de preparación.

5 En consecuencia, se requiere desarrollar un procedimiento novedoso para preparar calcobutrol altamente puro con un alto rendimiento a través de un procesamiento de preparación simple, económico y suave.

Divulgación

10 Problema técnico

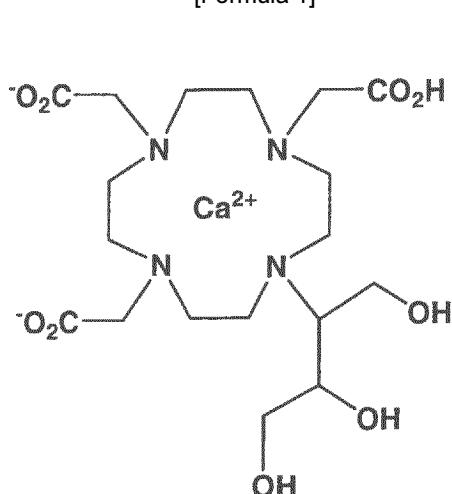
En consecuencia, la presente invención pretende proporcionar un procedimiento de preparación de calcobutrol, que es simple comparado con los procedimientos de síntesis de calcobutrol existentes, que incluye la preparación de 15 gadobutrol altamente puro y, luego, la eliminación de iones de gadolinio del gadobutrol, y es económico y suave porque el calcobutrol se puede obtener con una pureza elevada en comparación con cuando se utiliza un intermedio de gadobutrol.

20 Solución técnica

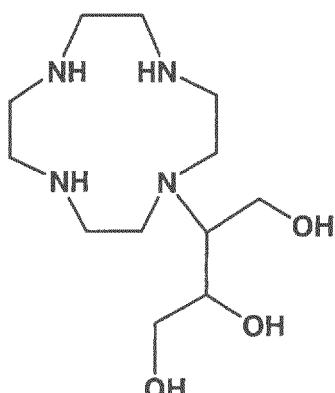
20 Con el fin de lograr el objetivo de la presente divulgación, la presente divulgación proporciona un nuevo procedimiento para preparar calcobutrol.

25 El procedimiento de la presente divulgación comprende: (S1) preparar un compuesto de Fórmula 3 más adelante utilizando un compuesto de Fórmula 2 más adelante o su sal; (S2) preparar un compuesto de Fórmula 4 más adelante usando el compuesto de Fórmula 3; y (S3) preparar un compuesto de Fórmula 1 más adelante utilizando el compuesto de Fórmula 4.

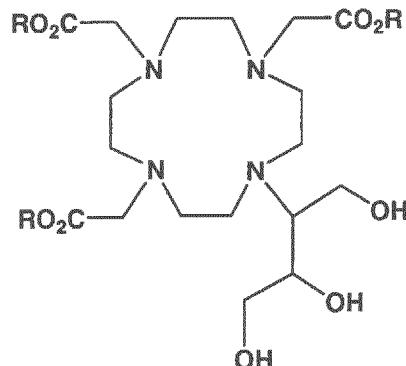
[Fórmula 1]



[Fórmula 2]

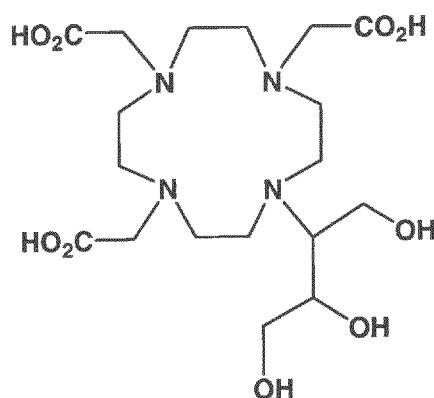


[Fórmula 3]



5

[Fórmula 4]

{en la que, R es alquilo de C₁-C₄ de cadena lineal o ramificada}

10

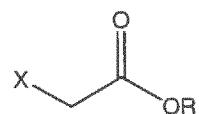
Cada etapa se describirá con más detalle a continuación.

(S1): Carboximetilación

15 A propósito del procedimiento de preparación de la presente divulgación, la etapa (S1) se refiere a una preparación del compuesto de Fórmula 3 haciendo reaccionar (es decir, carboximetilando) el compuesto de Fórmula 2 o su sal con un compuesto de Fórmula 5 a continuación,

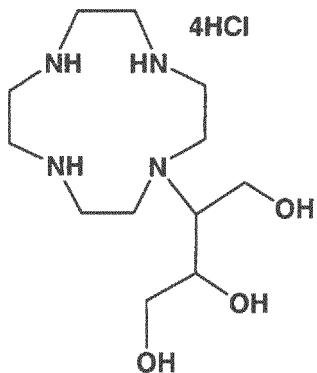
[Fórmula 5]

20

{en la que, R es alquilo de C₁-C₄ de cadena lineal o ramificada y X es halógeno, TsO^- o MsO^- }

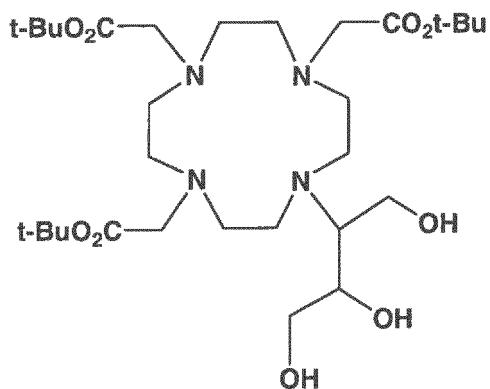
25 En alguna realización de la presente divulgación, el compuesto de Fórmula 2 o su sal en la etapa (S1) puede ser el hidrocloruro 4 de la Fórmula 6 a continuación,

[Fórmula 6]



- 5 Asimismo, en alguna realización de la presente divulgación, el compuesto de Fórmula 3 en la etapa (S1) puede ser un compuesto de la Fórmula 7 a continuación, en la que R es t-butilo.

[Fórmula 7]

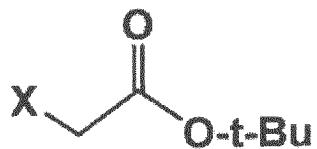


10

Asimismo, en alguna realización de la presente divulgación, el compuesto de Fórmula 5 puede ser un compuesto de la Fórmula 8 a continuación, en la que X es Br y R es t-Butilo.

15

[Fórmula 8]



- 20 En la etapa (S1), la reacción se puede realizar bajo la existencia de un disolvente orgánico que se usa habitualmente para la reacción de alquilación (es decir, carboximetilación). Preferentemente, el disolvente orgánico puede ser un disolvente mixto de agua y éter C₄-C₁₁, y, más preferentemente, el disolvente orgánico puede ser un disolvente mixto de agua y tetrahidrofurano (THF), pero no se limita a lo anterior.

- 25 Asimismo, la reacción se puede realizar bajo la existencia de una base, específicamente bajo la existencia de una base inorgánica. Preferentemente, la base puede ser una base débil tal como carbonato de potasio (K₂CO₃), bicarbonato de sodio (NaHCO₃), bicarbonato de potasio (KHCO₃) o de mezclas de los mismos, y, más preferentemente, la base puede ser carbonato de potasio pero no se limita a los anteriores.

- 30 La reacción en la etapa (S1) se puede realizar a 50 a 80 °C, preferentemente a 65 a 70 °C y más preferentemente a 63 a 68 °C, pero no se limita a las mismas.

De acuerdo con alguna realización de la presente divulgación, la etapa (S1) puede comprender además un proceso de cristalización del compuesto de Fórmula 3.

Un disolvente de cristalización utilizado en el proceso de cristalización puede ser cloruro de metileno, éter C₄-C₁₁, alcano C₄-C₈ o mezclas de los mismos, y es preferible usar una mezcla de cloruro de metileno y n-hexano.

5 El compuesto de Fórmula 3 se puede producir en alta pureza de 99 % o más, preferentemente 99,5 % o más, y más preferentemente 99,7 % o más a través de (S1).

(S2): Hidrólisis ácida

10 En el procedimiento de preparación de acuerdo con la presente invención, la etapa (S2) prepara el compuesto (butrol) de la Fórmula Química 4 con alta pureza sometiendo el compuesto que tiene una alta pureza de la Fórmula Química 3 a hidrólisis ácida.

15 La hidrólisis ácida se puede realizar utilizando una condición de reacción común para la hidrólisis ácida del compuesto éster. Preferentemente, la hidrólisis ácida se puede realizar añadiendo una solución diluida de ácido clorhídrico o una solución diluida de ácido sulfúrico al compuesto de Fórmula 3.

20 Asimismo, la hidrólisis ácida se puede realizar a 50 a 70 °C, preferentemente a 55 a 65 °C, y más preferentemente a 57 a 63 °C, pero no se limita a las mismas.

25 20 En alguna realización de la presente divulgación, la etapa (S2) puede comprender un proceso de purificación del compuesto de Fórmula 4 usando resina.

Además, según la alguna realización de la presente divulgación, la etapa (S2) puede comprender además un 25 proceso de cristalización.

25 25 Un disolvente utilizado en el proceso de cristalización puede ser metanol, acetona o mezclas de los mismos y es preferible usar un disolvente mixto de metanol y acetona.

30 30 El compuesto de Fórmula 4 (butrol) se puede producir con una pureza alta del 90 % o más, preferentemente del 95 % o más, y más preferentemente del 98 % o más a través de (S2).

Etapa (S3): Formación de complejo de calcio

35 A propósito del procedimiento de preparación de la presente divulgación, la etapa (S3) se refiere a una preparación de calcobutrol que es un complejo de calcio mediante la reacción del compuesto (butrol) de Fórmula 4 preparada con una pureza alta en la etapa (S2) con una fuente de iones de calcio.

40 40 La fuente de iones de calcio puede incluir cualquier tipo de compuesto capaz de suministrar iones de calcio y, preferentemente, incluye, pero no se limita a, carbonato de calcio, cloruro de calcio, oxalato de calcio, fosfato de calcio o hidróxido de calcio.

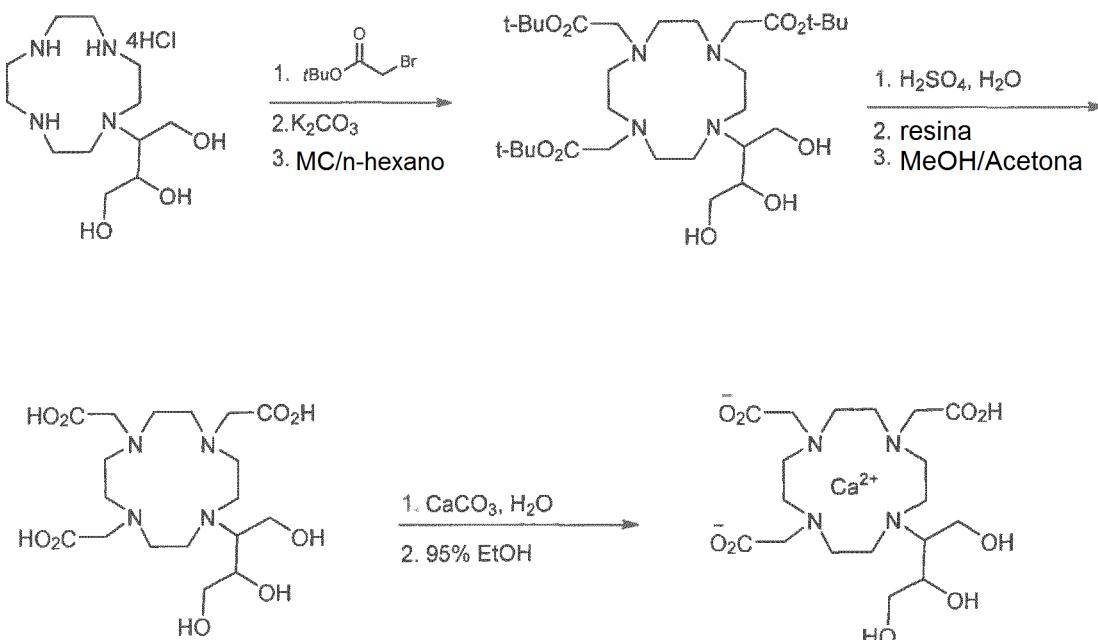
45 La reacción en la etapa (S3) se puede realizar de 80 a 100 °C, preferentemente de 85 a 95 °C, y, más preferentemente, de 87 a 93 °C, pero no se limita a lo anterior.

45 45 La etapa (S3) puede comprender además un proceso de cristalización de calcobutrol.

50 50 El compuesto de Fórmula 1 (calcobutrol) se puede producir con una pureza elevada del 99 % o más, preferentemente del 99,5 % o más, y, más preferentemente, del 99,9 % o más a través de la etapa (S3).

50 50 En alguna realizaciones de la presente divulgación, el calcobutrol se puede preparar mediante un procedimiento representado por el Esquema 1 siguiente.

[Esquema 1]



5 **Efectos ventajosos**

De acuerdo con la presente invención, el procedimiento de preparación no contiene gadobutrol en la ruta de reacción, a diferencia de los procedimientos de síntesis de gadobutrol existentes, lo que evita la necesidad de manipular gadolinio, que es tóxico, y el procesamiento de la reacción es muy suave.

10 Asimismo, el procedimiento de preparación de la presente invención es capaz de obtener calcobutrol con una pureza elevada a través de solo un proceso simple, a diferencia de los procedimientos de síntesis existentes, y por lo tanto es adecuado para la producción en masa.

15 **Mejor modo**

La presente divulgación se describirá más detalladamente a continuación con referencia a los ejemplos que la acompañan. Sin embargo, la presente divulgación puede realizarse de muchas formas diferentes y no debe interpretarse como limitada a los ejemplos expuestos en el presente documento.

20 Además, los reactivos y disolventes desvelados a continuación se adquirieron en Sigma-Aldrich Korea, a menos que se indique lo contrario, la IR se midió utilizando la serie FT-IR 4100 de Jasco; la HPLC se midió utilizando la serie 1200 de Agilent Technologies; y la RMN se midió utilizando el espectrómetro Oxford NMR de 300 MHz de Varian Mercury Instrument. La pureza se calculó como % de área de la HPLC.

25 **Ejemplo 1**

Etapa 1: Preparación de terc-butil-2,2',2''-(10-(1,3,4-trihidroxibutan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato

30 Se disolvió 4 clorhidrato de 3- (1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1-il)butan-1,2,4-triol (100 g, 0,2368 mol) con agitación en 500 ml de agua purificada y 1500 ml de tetrahidrofurano. Se añadió carbonato de potasio (327 g, 2,3684 mol) a temperatura ambiente y se añadió lentamente bromoacetato de terc-butilo (143,2 g, 0,434 nmol). Una vez completada la adición, se realizó una reacción de 63 a 68 °C. Cuando se terminó la reacción, se añadieron 1000 ml de agua purificada y se agitó y luego se separó una capa acuosa. El disolvente de la capa orgánica separada se eliminó mediante concentración a presión reducida y luego se separó la capa orgánica utilizando 1500 ml de agua purificada y 1000 ml de tolueno. Se separó una capa acuosa añadiendo 550 ml de ácido clorhídrico a la capa orgánica separada. Se añadieron 500 ml de cloruro de metileno a la capa acuosa separada y se ajustó el pH a 9,3 a 9,8 utilizando 100 g de carbonato de sodio y, a continuación, se separó una capa orgánica de la misma. La capa orgánica separada se lavó con agua salada al 10 % para separar la capa orgánica y se realizó la deshidratación, y, a continuación, el disolvente se concentró a presión reducida. Se añadieron 400 ml de cloruro de metileno y 1600 ml de n-hexano al residuo concentrado y el sólido resultante se filtró y se secó para preparar 117,3 g de terc-butil-2,2',2''-(10-(1,3,4-trihidroxibutan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato

Rendimiento: 80 %, Pureza: 99,7 %

RMN ^1H (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,46(s, 9H), 1,90-3,10 (m, 11H), 3,20-3,80 (m, 17H)

Espectro infrarrojo (KBr, cm⁻¹): 3350, 2980, 2960, 2860, 2820, 1730, 1455

5 Etapa 2: Preparación de 2,2',2"-(10-(1,3,4-trihidroxibutan-2-il) -1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato

La temperatura interna se elevó a 57 ~ 63 °C, mientras se disolvía el terc-butil-2,2',2"-(10-(1,3,4-trihidroxibutan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacetato (30 g, 0,048 mol) preparado en la Etapa 1 con agitación en 60 ml de agua purificada. Después de elevar la temperatura, se añadió, gota a gota, una solución mixta de 60 ml de agua purificada y 6 ml de ácido sulfúrico preparada por adelantado, se realizó una reacción durante 4 horas a la misma temperatura y se enfrió a temperatura ambiente (20 a 25 °C) tras confirmar la terminación de la reacción. Cuando se completó el enfriamiento, el mismo se trató con resina (5 v/p) y se concentró. Se añadieron 90 ml de metanol y 300 ml de acetona al residuo concentrado y el cristal resultante se lavó con acetona. El cristal filtrado se secó al vacío a una temperatura interna de 50 °C para preparar 20,1 g de ácido terc-butil-2,2',2"-(10-(1,3,4-trihidroxibutan-2-il)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacético.

Rendimiento: 92 %, Pureza: 98 %

RMN ^1H (CDCl₃, 300 MHz): δ (ppm) 1,92-3,15(m, 11H), 3,23-3,88(m, 17H)

Espectro infrarrojo (KBr, cm⁻¹): 3350, 2980, 2960, 2860, 2820, 1730, 1455

20 Etapa 3: Preparación del complejo de ácido 10- (2,3-dihidroxi-1 (hidroximetil) propil)-1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-ácido triacético-calcio (calcobutrol)

Se disolvió ácido 2,2',2"-(10-(1,3,4-trihidroxibutan-2-il) -1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacético (15,4 g, 0,0342 mol), preparado en la etapa 2 en 154 ml de agua purificada con agitación y luego se añadió carbonato de calcio (3,42 g, 0,0335 mol). La temperatura interna se aumentó a 87 ~ 93 °C y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. Después de la terminación de la reacción, la solución de reacción se filtró usando tierra de diatomeas, y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo concentrado se añadió con 231 ml de etanol y se calentó a reflujo con agitación. El producto resultante se enfrió a temperatura ambiente (20 ~ 25 °C), se agitó a la misma temperatura durante 1 hora y se filtró en una atmósfera de nitrógeno. El cristal filtrado se secó al vacío a una temperatura interna de 50 °C o menos, obteniendo así 13,0 g de un complejo de ácido 10-(2,3-dihidroxi-1-(hidroximetil)propil) -1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triacético.

Rendimiento 74,3 %, Pureza 99,5 %

RMN ^1H (DMSO, d₆): δ (ppm) 1,90-2,30 (m), 2,40-2,90 (m), 3,0-3,80(m), 3,91(d)

Espectro infrarrojo (KBr, cm⁻¹): 3400, 2960, 2840, 1600, 1410, 1290, 1275

35

Ejemplo 2

El ácido 2,2',2"-(10-(1,3,4-trihidroxibutan-2-il) -1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triil)triacético (18,0 g, 0,0399 mol), preparado en la etapa 2 del Ejemplo 1, se disolvió en 144 ml de agua purificada con agitación y, después, se añadió carbonato de calcio (4,00 g, 0,0399 mol). La temperatura interna se aumentó a 87 ~ 93 °C y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. Después de la terminación de la reacción, la solución de reacción se filtró usando tierra de diatomeas, y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo concentrado se añadió con 180 ml de etanol y 180 ml de acetona y se calentó a reflujo con agitación. El producto resultante se enfrió a 0 ~ 5 °C, se agitó a la misma temperatura durante 1 hora y se filtró en una atmósfera de nitrógeno. El cristal filtrado se secó al vacío a una temperatura interna de 50 °C o menos, obteniendo así 13,0 g de un complejo de ácido 10-(2,3-dihidroxi-1(hidroximetil)propil) -1,4,7,10-tetraazaciclododecan-1,4,7-triacético-calcio.

Rendimiento 62,9 %, Pureza 99,4 %

RMN ^1H (DMSO, d₆): δ (ppm) 1,90-2,30 (m), 2,40-2,90 (m), 3,0-3,80 (m), 3,91 (d)

Espectro infrarrojo (KBr, cm⁻¹): 3400, 2960, 2840, 1600, 1410, 1290, 1275

50

Aplicabilidad industrial

El proceso de preparación de la presente divulgación es muy adecuado para una producción a gran escala porque el proceso es muy suave y el calcobutrol de alta pureza se puede preparar mediante un proceso simple.

55

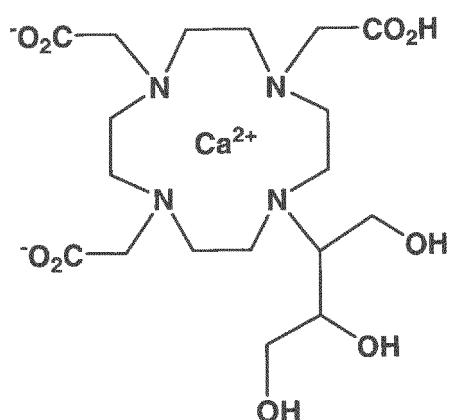
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento, para preparar calcobutrol, que comprende:

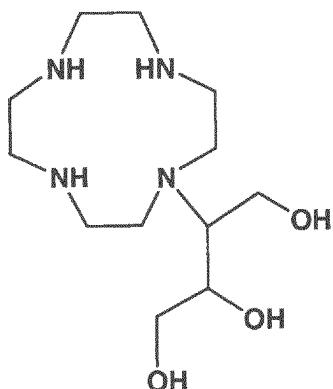
- 5 (S1) preparar un compuesto de Fórmula 3, abajo, utilizando un compuesto de Fórmula 2, abajo, o su sal;
 (S2) preparar un compuesto de Fórmula 4, abajo, utilizando el compuesto de Fórmula 3; y
 (S3) preparar un compuesto de Fórmula 1, abajo, utilizando el compuesto de Fórmula 4.

10

[Fórmula 1]

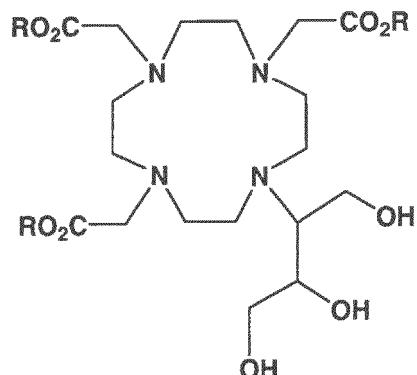


[Fórmula 2]



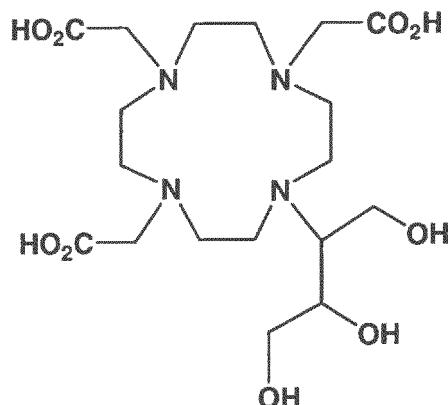
15

[Fórmula 3]



20

[Fórmula 4]

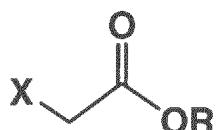


5 {en las que, R es alquilo de C₁-C₄ de cadena lineal o ramificada}

2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, la etapa (S1) comprende hacer reaccionar el compuesto de Fórmula 2 con un compuesto de Fórmula 5, abajo, existiendo un disolvente mixto de agua y éter C₄-C₁₁ y una base inorgánica.

10

[Fórmula 5]



15 {en la que R es idéntico a la reivindicación 1 y X es halógeno, TsO⁺ o MsO⁻}

3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, el éter es tetrahidrofurano (THF).

20 4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, la base inorgánica es carbonato de potasio (K₂CO₃), bicarbonato de sodio (NaHCO₃), bicarbonato de potasio (KHCO₃) o mezclas de los mismos.

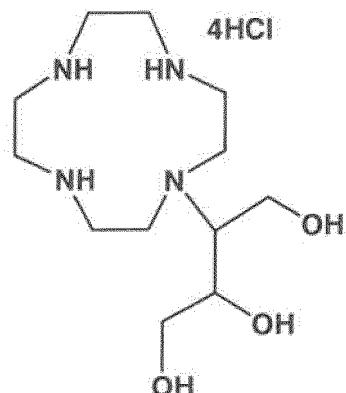
5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 2, la etapa (S1) comprende además un proceso de cristalización.

25 6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, un disolvente de cristalización usado en el proceso de cristalización es cloruro de metileno, éter C₄-C₁₁, alcano C₄-C₈ o mezclas de los mismos.

7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, el disolvente de cristalización es una mezcla de cloruro de metileno y n-hexano.

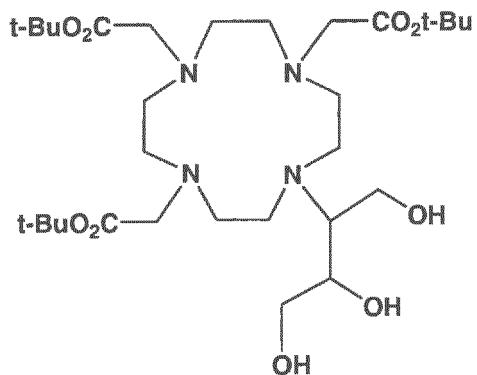
30 8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, la sal del compuesto de Fórmula 2 en la etapa (S1) es 4 clorhidrato de la Fórmula 6, abajo.

[Fórmula 6]



- 5 9. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, el compuesto de Fórmula 3 en la etapa (S1) es un compuesto de Fórmula 7, abajo.

[Fórmula 7]



10

10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, la etapa (S2) se realiza mediante una hidrólisis ácida.

15 11. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, la etapa (S2) comprende un proceso de purificación del compuesto de Fórmula 4 usando resina.

12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, la etapa (S2) comprende además el proceso de cristalización.

20 13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, en el que un disolvente usado en el proceso de cristalización es metanol, acetona o una mezcla de los mismos.

14. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la etapa (S3) comprende hacer reaccionar el compuesto de Fórmula Química 4 con una fuente de iones de calcio.

25 15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14, en el que la fuente de iones de calcio es carbonato de calcio, cloruro de calcio, oxalato de calcio, fosfato de calcio o hidróxido de calcio.