

Spartan'16 を利用した天然物の構造決定

弘前大学農学生命科学部
橋本 勝

NMR など有機化合物のスペクトルの演繹的計算では主に電子密度汎関数法を用います。密度汎関数は量子化学計算手法の一つですが、ポテンシャルを波動関数（軌道）ではなく電子密度から求めようとするもので、計算の高速化が期待できる方法です。1990 年頃までは十分な精度が得られなかったようですが、汎関数の改良により信頼性が向上し、2000 年頃には利用した論文数が従来の Hartree-Fock 法などを用いた論文数を超えています¹。パソコンにおいてもマルチコア化が進化したことで、以前は大型計算機を必要としたスペクトル計算も、ワークステーションや汎用パソコンで実行できるようになって来ました。2013 年に Spartan を利用した NMR 化学シフト予想について紹介記事² を作成しましたが、計算の詳細についての質問をお受けしました。そこで最近の私たちが行った天然物構造決定とともに、前回記事とは異なった視点で本手法を紹介します。

A) Ahaetolide II³

真菌 *Helminthosporium velutinum* TS28 から単離した Ahaetolide II (1) の平面構造及びマクロリド部は通常のスเปクトル解析で決定しました。3 位水酸基に結合したエステル側鎖の立体化学について、CDCl₃ 中、H-5/H-3' 間に比較的強い NOESY 相関が見られ、CD₃OD 中ではこれが消失したことから、また、CDCl₃ 中では 3' 位水酸基プロトンが他の二つのアルコール性プロトンに比べ高周波数に現れたこと等から、C1 カルボニル酸素と 3' 位水酸基との間に水素結合を間に水素

結合を推定、先の NOE を満たすことが出来る (3'S)- 配置を推定しました。しかし、2' 位立体化学について³J_{H-2'/H-3'} 値や C5 化学シフト値から (2'S)- 配置を推定するものの、決定には不十分でした。そこで、化学シフト計算により考察しました。配座数増大の原因となる側鎖ヘキシル基をメチル基に置換した 2' 位、3' 位の可能な 4 異性体対し、① MMFF による配座解析、② EDF2/6-31G* による構造最適化、③ 配座絞込み、④ EDF2/6-31G* を用いた振動計算による自由エネルギーの算出、⑤ EDF2/6-31G* による化学シフト計算、⑥ ボルツマン分布に基づく化学シフト補正、⑦ 理論値/実験値の差異の解析の順で行いました。構造決定に重要な C1-C5 位及び C1'-C5' 位を抽出して比較したところ、Fig 1 のようになり、差異が最も小さな (2'S,3'S)- 配置を推定しました。(3'R)- 異性体では、3' 位水酸基と 1 位カルボニル基との水素結合が形成出来ないこともわかり、先ほどの考察も確認しました。この計算では、重要配座の取りこぼしが見づかり、③の段階で不足する配座を手動追加する必要がありました。配座の絞込みでは、段階的に精度の高い計算を行い、安定配座と判断するエネルギーウィンドウも徐々に閉じて行いますが、エネルギーウィンドウの閉じ方が適正でなかったか、あるいは配座絞込み途中の計算方法のいずれかにおいて安定とすべき配座をエネルギー極小値として表現できず周辺の安定配座に飲み込まれてしまったことなどが考えられま

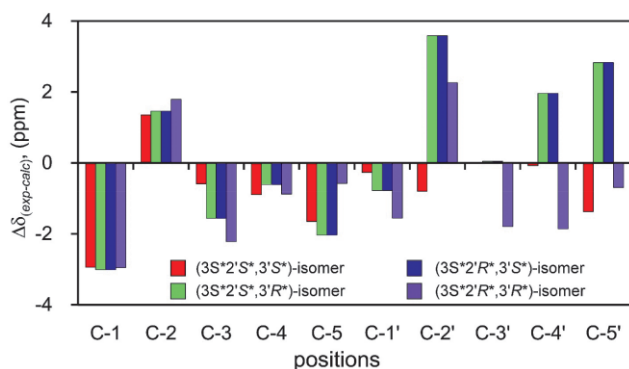
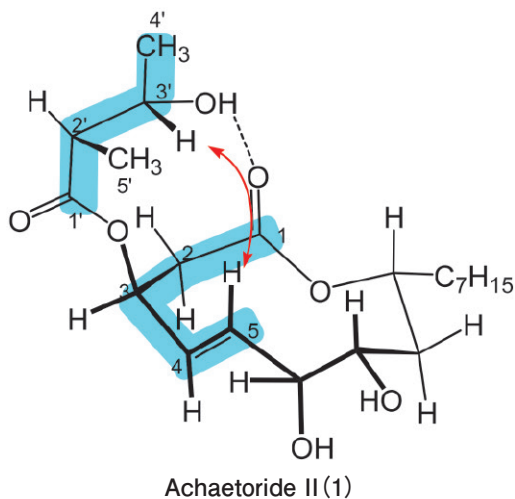
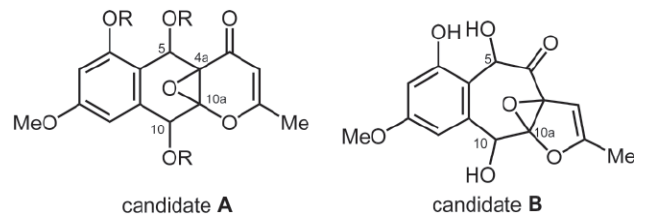


Fig. 1. Achaetoride II (1) の構造 (左) と、C1-C5 及び C1'-C5' における EDF2/6-31G* による計算値 / 実測値の差異 (右)

す。また、通常計算はエンタルピーに相当する立体エネルギーを基にボルツマン分布を計算しますが、1 の場合、側鎖の配座自由度が高く、エントロピー項が無視出来ないと考え、計算時間は増大するものの振動計算によりエントロピーを求め自由エネルギーを基に配座のボルツマン分布を算出しました。私たちは計算結果はあくまでも参考データであり、実験結果が優先すると考えております。1 のメタノリシスにより、(2S,3S)-3-hydroxy-2-methylbutanoate を単離し、各種分析によりこれを確認して計算結果と矛盾しないことを確認しました。

B) Epoxyrousoeone⁴

真菌 *Rousoella japonensis* KT1651 培養液から単離した Epoxyrousoeone (2) は、NMR を用



計算 / 実測 ¹³C 化学シフトの標準差 (ppm)

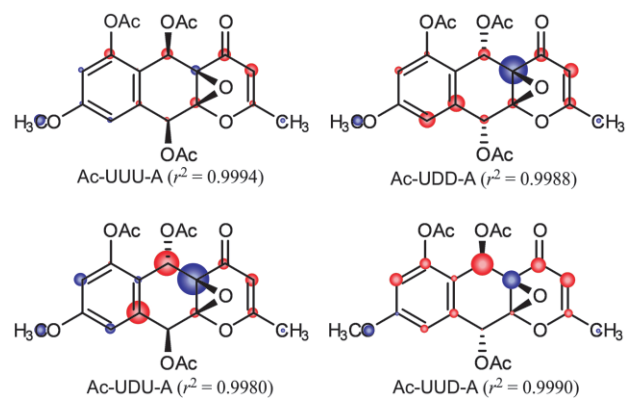
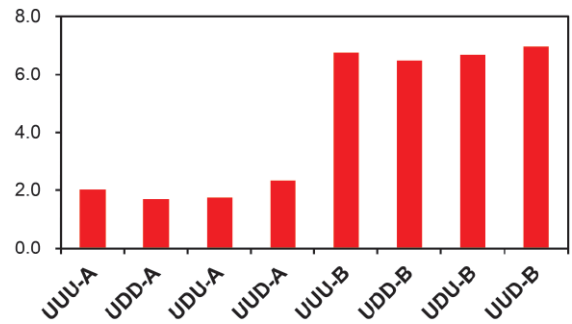


Fig. 2. Epoxyrousoeone (2) の候補構造 A, B (上)、計算 / 実測 ¹³C 化学シフトの標準差異中)、およびアセチル体における計算 / 実測 ¹³C 化学シフト差異の分布 (下)

いた構造決定に有用なプロトンが少なく、推定した candidate A, B のいずれかが決め手に欠けました。水酸基及びエポキシドの立体化学を考えると、さらに立体異性体も存在します。(図構造式の U, D は水酸基、エポキシドの up, down を意味します)。そこで 1 と同様に、EDF2/6-31G* により計算スペクトルとの差異を求めて比較しました。候補構造間でのエントロピー差は無視できると考え考慮しませんでした。計算化学シフトとの差異から、この方法で candidate B を候補から明確に排除できました。しかし、candidate A は全ての異性体において計算の精度内であり、

異性体を議論することは出来ませんでした。また、フェノール性、アルコール性のいずれの水酸基が結合した炭素の化学シフトには計算値/実測値との間にバラツキが集中していました。わずかに存在する酸性プロトンの解離した化学種の存在がその原因と考え、アセチル化して NMR 測定、化学シフト計算を行ったところ、先ほど問題となったバラツキは減少、立体化学の違いがより明確に判断できるようになりました。構造式に計算/実測 ^{13}C 化学シフト差異のプロットすることにより、Ac-UUU-A が他の異性体に比べ有意な差を持って良い一致をしていることが判明、その立体構造を決定しました。実際には、NOE や円二色性スペクトルなども解析し矛盾がないことも確認しています⁵。

一部の候補構造において、配座解析で MMFF を用いた場合、重要配座の取りこぼしが多く見られ、半経験的分子軌道法 AM1 で配座解析を行うことで改善が見られました。分子力学法では安定な分子を基にパラメータが作成されており、ひずみを持つ 2 では、MMFF の持つ配座-ポテンシャルエネルギー相関にずれ生じ、本来の極小値を再現できなかったことが原因であったと考えています。

C) neomacrophorin X⁶

neomacrophorin X (3) は *Trichoderma* sp. 1212-03 の代謝物です。青色で示したプロペラン構造部には NMR での構造決定に有用なプロトンが少なく、スペクトル解析から、structure A、あるいは B の二つの候補構造を推定、 ^1H 結合定数からグリコール部分はトランス配置であることまで進めましたが、それ以上の絞込みは困難でした。そこで可能性のある全ての構造について先と同様に化学シフト計算により比較しました。ドリマン部（テルペン部）を含めて計算すると、非現実的な時間が要求されることから、R をメチル基と単純化させました。置換したメチル基が結合する炭素の化学シフトでは置換した影響が無視出来ないため、解析時は除外しました。その

結果、グリコール部が (R,R)-配置の structure A が最も良いスコアを与えました。しかし、(S,S)-異性体とのスコア差は小さく、この議論だけで排除することは危険でした。この化合物の NMR スペクトルは測定溶媒によって大きく変化するという特徴がありました。計算では真空状態を想定していることから、溶媒効果の小さい CDCl_3 中のデータを参照しました。その後詳しく解析すると、溶媒効果 (SM5.4) を加味すると第二安定配座（第二配座）が、著しく安定化を受け、第二配座単独の計算化学シフトは CD_3OD 中のスペクトルデータをよく再現することが判りました。Structure B ではむしろ逆の傾向にあることがわかり、これにより候補構造から除外することができました。SM5.4 による安定化は、第二配座を最安定配座とするほどのものではなかったのですが、第二配座が極性溶媒中では最安定配座になると仮定することにより、測定 NMR スペクトルの全てを矛盾無く説明でき

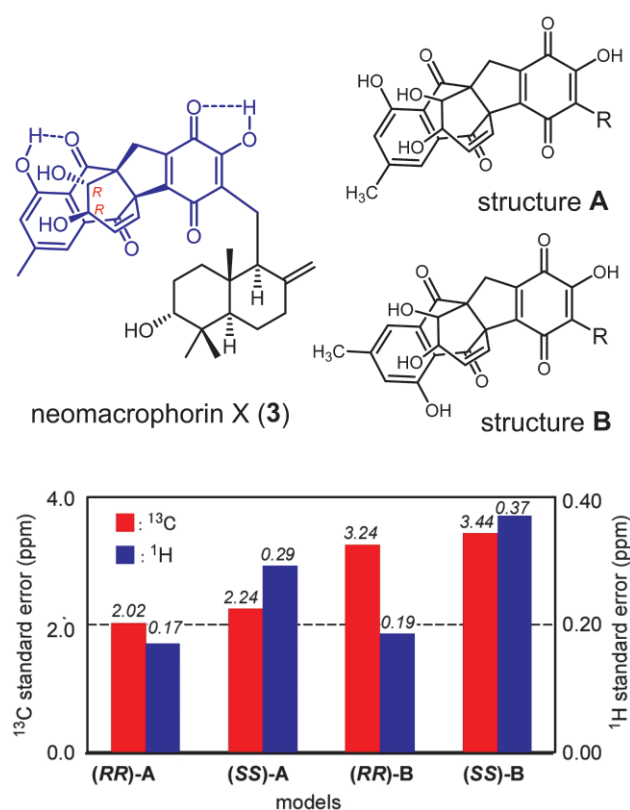


Fig 3. neomacrophorin X (3) の構造と候補構造 A, B (上) と計算結果の比較 (下)

ることがわかりました。さらに円二色性スペクトルや χ_{CH} などでも矛盾無く説明できることを確認しました。SM5.4 は半経験的な溶媒和モデルで、精度については議論があると思いますがこの研究では十分でした。Spartan'14 では、溶媒和モデルをデフォルトで計算する仕様になっていたことが幸いしました。Spartan'16 では、溶媒和計算は追加設定しなければならなくなりました。

以上最近、私たちが研究で化学シフト計算を利用したものについて紹介しました。次に実際に Spartan'16 を使用し経験してきた tips みたいなものを紹介したいと思います。

1) パソコン・ワークステーション

CPU のコア数が多いほどより並列化が可能となり、より高速な計算が可能になります。また、クロック数の大きい CPU ほど有利です。Spartan'16 では並列の最大 12 コア（仮想もしくはスレッド）となっていることから実装 6 コアの CPU であれば、機能を最大に引き出すことが出来るということになります。それぞれの並列処理でメモリを必要とする為、多少大きめのメモリを載せたほうが良いようです。計算では、数日を要することも少なくありません。同じパソコンでワープロ仕事くらいは可能ですが、エラーなどでフリーズした場合、折角の計算がダメになってしまうので、計算中はあまり触らないほうが良いと思います。Spartan'16 では計算経過をハードディスクに頻繁に書き込みます。書き込み速度はハードディスクに比べ SSD の方が速いことから、マニュアルでは SSD を組み込むことを推奨しています。作られるスクラッチファイルは数百 MB 程度ですので、SSD は小さくなくて構わないはずで、設定は「Preference」の「Jobs」パネルから「Scratch Space Directory」で行います。SSD はハードディスクと違い、書き込める回数に限界があるそうです。頻繁なアクセスを考えると速く劣化する可能性があり、

重要データと混在させないほうが良いかもしれませんが。Spartan'16 を使用する限り、グラフィックは最低でも大きな問題が無いようです。CPU は稼動するとかなりの熱を発生します。汎用パソコンでは CPU を 100% で長時間働かせるといったことは想定されておらず CPU の温度管理がうまくいかないと熱暴走し、フリーズによりデータが消えるばかりかパソコンの寿命を短くしてしまいます。冷却ファンなどを大型にして十分に冷却することをお勧めします。或いは、性能は犠牲となりますが、先ほどの「Jobs」パネルの設定で、実装コアの 50% 程度の使用でとどめておくことも一策です。ワークステーションの場合、CPU の酷使も想定して設計されているそうです。価格は汎用パソコンの 2 倍以上しますが安心して使用できます。朗報として 10 コアクラスの廉価版 CPU が発表されました。これが印刷される頃にはそのような CPU を搭載したパソコンも出揃うと思われます。排熱管理をうまく行えば、20 万円程度の支出で現在のワークステーションクラスのパフォーマンスが実現できると期待されます。

2) ソフトウェアの特徴と設定

Spartan'16 をはじめ、多くの分子モデリングソフトウェアは並列計算に対応し、高度な計算も現実的な計算時間で実行可能です。パソコンやワークステーションでの計算では CPU が実装するコア数分の並列化、高速化が可能になります。実際には、ハイパースレッディングテクノロジーにより、1 コアで 2 スレッド、即ち二つの並列処理が可能です。ソフトウェアごとで並列化の上限が有ったりなかったりするようですが、原理的に並列化による計算速度向上には限界があるようです。Spartan'16 では並列化は最大 12 になっています。残念ながら、Spartan'16 では IR や NMR スペクトル化学シフトの計算では並列化がされない模様です。天然物では複数の安定配座を考慮する必要が有ることから、私の場合、並列化されていない計算を

行う場合は複数の配座を一度に計算させることで全体の計算時間を短縮するように心がけています。設定は、「Option」メニューから「Preference」を呼び出し、「Jobs」パネルから「Manual」で行います。使われるコア数は「Current Molecule Per Job」と「Cores Per Molecule」との積になります。この値が実装のコア数を超えても、熱暴走さえなければ、計算結果がおかしくなることはないので、多少実装コア数を超えるように設定してCPUを遊ばせないようにしています。

3) 初期配座・配座探索

通常は Spartan'16 上で分子を組み上げますが、ChemDraw パネルを使うと ChemDraw で構造を描き Spartan'16 の入力ファイルとすることが出来ます。PDB ファイルを取り込んだ場合、二重結合の情報などが消えてしまう場合があるので、一つずつ確認する必要があります (Spartan'16 の場合、芳香環化合物では、共鳴構造も配座異性体と判断され候補構造が増大する場合があります)。Spartan'16 では、配座解析で回転させる結合、フリップさせる原子を自動的に認識する機能がありますが、特に環構造の場合、デフォルト設定で全ての可能な配座をカバーできるのかよく判りません。私の場合、環内原子のフリップについて、多めに設定するようにしています。回転・フリップの設定箇所の数が増えると探索する配座数は指数関数的に増大し、簡単に数万配座を超えてしまいます。NMR スペクトルにより環の配座や、アルコールなどで水素結合が明らかな場合は、手動で回転・フリップの設定を外すことで計算時間を短縮させることができます。分子サイズの増大も計算時間を増大させます。直鎖構造の側鎖をメチル基に置き換えるなど、議論にあまり関係のない部分を省略することで計算時間を短縮、ひいてはより高いレベルでの計算も可能になります。Spartan'16 から、配座探索は MMFF のみが利用でき、他の方法はデフォルトでは利用できなくなっ

ていました。AM1 など他の方法で配座解析を行う場合は「Option」に該当するキーワードを入力することによって利用することが出来ます。AM1 で配座解析するとき同時に「SINGLESTEP」といったキーワードを入力することを要求してきます。キーワードの全てがマニュアルに出ているわけではないので、必要に応じメーカーに問い合わせる必要があります。実際に実行すると、理論的な初期配座数よりずっと少ない配座しか探索しない場合も少なくありません。理論的な初期配座数は「Set Torsion Angles」とした時に、ソフトウェア画面の右下に見ることが出来ます。計算時間を短縮させるアルゴリズムが働いたためだと想像しますが、気持ちが悪いので計算条件を設定するパネルで「Minimum Conformers Examined」にチェックし、理論的な初期配座数を入力するようにしています。それでも無意味な回転・フリップを設定したような場合は配座探索の途中で「もう新しい配座は見つからない」と判断して停止します。Spartan'14 までは 100 配座或いは最安定配座から 42 kJ/mol 以内の配座をリストしましたが、Spartan'16 では配座数に関係なく 42 kJ/mol 以内をリストするため候補配座数は数百となることもあります。

4) 配座の絞込み

配座探索で見つかった候補配座全てを構造の精密最適化すると、膨大な時間がかかってしまいます。最安定配座から 10 kJ/mol 以内の配座についてスペクトル計算を行えば十分といえることから、段階的に配座の絞込みを行います。開発者の Warren Hehre 氏は① HF/3-21G による構造最適化の後 40 kJ/mol 以内の配座を選抜、② ω B97X-D/6-31G* の一点計算の後 15 kJ/mol 以内の配座を選抜、③ ω B97X-D/6-31G* で構造最適化した後 10 kJ/mol 以内の配座を選抜し、化学シフト計算をおこなう。 ω B97X-D/6-31G* ではエネルギーの再現性が十分でないのか、得られた構造に対し ω B97X-V/6-311+G* (2df,2p) の一点計算で別途エネルギーを求め、ボルツマ

ン分布を計算するというプロトコルを推奨しています⁷。また次期バージョンからは配座探索から一連の作業を自動化することができるようになるという聞いています。私も、 ω B97X-D/6-31G* のエネルギーの再現性は不十分であると感じており、最近では、配座自由度の高い分子の場合、Turbomol により B3LYP/def2-TZVP あるいは B3LYP/def2-SVP を用いて構造最適化と振動計算により配座エネルギーを求めるようにしています。

5) 化学シフト計算

Spartan'16 では B3LYP/6-31G*、EDF2/6-31G*、 ω B97X-D/6-31G*、 ω B97X-D/6-311G* が利用可能です。 ω B97X-D/6-31G* を用いた計算では、経験的補正の改良もなされ ¹³C 化学シフトで 2.0 ppm の精度で計算できるとのことです。Hehre 氏はこの方法で 1900 例を超える天然物を計算して、そのほとんどで満足する結果を得ることが出来たと報告しています⁷。Hehre 氏の計算結果は Web で公開されており、とても参考になります (<http://nmr.wavefun.com/>)。Spartan'14 では EDF2/6-31G* を推奨していたことから、これも信頼性が高いといえます。実際には複数の配座の化学シフトをボルツマン分布に基づき重量平均をとり、計算化学シフトとしています。計算では ¹H 化学シフトも求めることができます。水素原子の多くは分子表面に位置しており測定溶媒のアニソトロピーの影響を受けやすいため、計算 ¹H 化学シフトを議論する場合は解析に慎重になる必要があります。一方、炭素核は水素原子などに表面を覆われているため、溶媒からのアニソトロピー効果は小さいといえます。極性溶媒中データを参照すると、構造が正しい場合でもスコアが下がる傾向にあります。これは配座の再現性や酸性プロトンの解離した化学種からの影響が問題になると考えています。いくつか計算してみた感覚ですが、高いレベルで最適化した構造を、 ω B97X-D/6-31G* により化学シフトを求めて、より高い精度が期待できるかということ、そういうものではないようです。

6) エントロピーの考慮

ボルツマン分布は自由エネルギーに支配され、自由エネルギーはエンタルピー、エントロピー、そして温度の関数です。通常モデリングソフトが扱う立体エネルギーはエンタルピーに相当します。小さい分子では配座間のエントロピー変化は小さく無視できるためエンタルピー項、即ち立体エネルギーのみでボルツマン分布を求めて問題ありません。しかし、分子サイズが大きくなると、一般に配座の自由度も高くなりエントロピー項を無視できなくなります。とくに、二つの比較的大きなユニットが sp³ の炭素（或いは酸素）鎖でつながっているような場合はエントロピー変化が大きくなります。また、配座自由度の高い側鎖の配座を議論するような場合もエントロピー項の寄与は無視できません。乱暴な見方ですが、配座が変化することで見た目の分子の表面積が変化するような場合はエントロピー項の考慮が必要になると考えています。エントロピー項は振動解析計算というもので求めますが、Spartan'16 では IR スペクトルを計算すると同時に得られます。エントロピー項を計算するには、構造最適化の数倍の計算時間が要求されます。また、Spartan'16 マニュアル⁸ (p.525) ではエントロピー計算の信頼性について懐疑的です。したがって、考慮しなくて良いケースでは、計算時間だけが增加する結果となります。配座セットを一律にエントロピー計算するのではなく、まず、代表的な配座二つを抽出しエントロピーを求めて、その変化が十分に小さければエントロピー項の計算を省略した方が懸命です。Spartan'16 ではエントロピー (H°) と同時に自由エネルギー (G°) も表示させることができるので手間が省けます。「Property」パネルの「Thermodynamic」タブを選び、必要な項目をクリックすればスプレッドシートに貼り付けることが出来ます。ただし、単位がハートリー (au) ですので、kJ/mol で議論するには単位変換が必要です⁹ (3 桁を有効数字として議論する場合は $\times 2630$)。マニュアル⁸ p345 によれば、

スプレッドシート上でも、キーワードにより単位変換は可能なようです。著者の場合、文法がわからないため使用していませんが、うまく使えれば便利な機能です。

7) 溶媒効果

通常、分子モデリングでは真空条件を想定しており、溶媒を考慮しません。neomacrophorin X (3) の構造決定では、溶媒効果を考えることが構造決定に向けた解決の糸口になりました。Spartan'16 では、POSTSOLVENT (通常の構造最適化ののち溶媒和エネルギーのみ追加考慮する) と ADDSOLVENT (溶媒和を考慮しながら構造最適化を行う) の二つが用意されており、計算条件を設定する際にキーワードとして入力します。また複数の溶媒和モデルが用意されています。しかし溶媒を考慮すると、特に ADDSOLVENT では計算時間が著しく増大するそうです。問題は溶媒和を考慮した場合の計算結果です。量子化学計算で溶媒分子を考慮することは原理的には可能ですが、計算時間の点から非現実的です。そこで、溶媒を一定の誘電率を持った場としてシミュレーションするのが溶媒和モデルです。反応中間体のように電荷が局在化した化学種の構造を議論する場合は有効と思われるが、天然物研究者が注目する極性官能基と溶媒分子との水素結合などを考慮することは原理的にできません (マニュアル⁸ p269 参照)。まして ¹H NMR スペクトルにおける溶媒のアニソトロピー効果は論外です。NMR 化学シフトの視点では、スペクトルのプロファイルが溶媒によって極端に変化するのではなければ、考慮する必要は無いと思われる。測定溶媒により ¹H 結合定数などスペクトルが大きく変化する場合は、安定配座が溶媒によりスイッチすることが原因です。極性溶媒中で最安定となる配座は、真空条件でもそれなりに安定なはずですので、通常条件の安定配座リストの中に存在するはず。それらを、化学者の目で探ることが確実かと思えます。計算時間増加が小さい POSTSOLVENT 法で定性的

に検討することも有効かもしれません。複雑な官能基を持つ天然有機化合物の安定配座の計算に、溶媒和を定量的に議論することは意味が薄いといわざるを得ません。高いレベルの計算が実行可能であったとしても、検証が行われていない組み合わせは危険です。Spartan シリーズは開発段階で信頼性を検証した方法が判る様に書かれており、親切だと感じます。

8) 計算結果の解析

ジアステレオマーなど複数の候補構造からの絞込みに困った時は、計算結果と比較することは有効ですが、候補構造一つと議論することは危険です。「どちらの構造の方がより矛盾が少ないか」といった議論にすべきと考えています。計算の精度 (ωB97X-D/6-31G* で ¹³C : 2.0 ppm) 以内の差の議論には慎重になるべきです。計算結果を評価する際、実測値との相関を見ようと相関係数を求めると、多少構造が異なっても相関係数は限りなく 1 に近いので、差異が解りにくいことを経験しました。Hehre 氏は差異の二乗平均平方根 (RMS) を求めて、これが小さくなるようにプログラムを最適化していることから、これで議論するのが最も有効だと考えます (エクセルで求める場合は、一度実測値と計算値の差をもとめて、それに対し STDEV.P 関数を使います)。構造が正しい部分は当然差異が小さくなります。したがって、構造が明らかな部分をふくめた全構造で RMS 値を議論する差異の影響が小さくなり解りにくくなってしまいます。構造明白な部分を除いて RMS 値を求めると議論がしやすくなると考えています。また、Hehre 氏も行っていますが、構造式に計算値/実測値との差異をマッピングすると問題となる部分に大きな差異が局在化してわかりやすくなることも経験しました。

天然物化学は実証科学であり、何よりも実験結果が優先されます。密度汎関数法によるスペクトル計算は発展途上と考えるべきで、妄信し計算結果の議

論のみで結論することは非常に危険です。実際、計算の条件設定次第では、重要配座を取りこぼすこともあり、これが間違っただスペクトル議論を導いてしまう可能性は否定できません。用いる汎関数が違えば異なった結果を支持するようなこともないとは言えません。2つ以上の候補構造が計算精度以内（或いは付近）のときは、特に注意が必要です。また計算結果を重んじるあまり、実験スペクトル解析にバイアスがかっていけません。望ましくない計算結果が論文等に記載されることは稀です。実際の計算の前段階でいくつか計算方法を試します。予備計算といえば聞こえが良いのですが、望ましい計算結果が得られる方法を選んでいともいえずありません。計算による議論はあくまでも傍証であり、計算結果を別の方法で確認する必要があることも忘れないで欲しいと思います。

1. Webで公開されている常田貴夫先生の講演資料
<http://rare-events.org/tsuneda/Kyoto-text.pdf#search=%27%E5%AF%86%E5%BA%A6%E6%B1%8E%E9%96%A2%E6%95%B0+%E6%AD%B4%E5%8F%B2%27>
2. Wavefunction User Letter No.4
3. Arayama, M.; Maeda, H.; Tanaka, K.; Takada, N.; Nehira, T.; Hashimoto, M. *Tetrahedron* 2015, 71, 7900-7910.
4. Honmura, Y.; Takekawa, H.; Tanaka, K.; Maeda, H.; Nehira, T.; Hehre, W.; Hashimoto, M. *J. Nat. Prod.* 2015, 78, 1505-1510.
5. 現在Spartanは円二色性スペクトル計算に対応していません。Turbomol (Cosmologic社) によりBHLYP/def2-TZVPにより計算スペクトルを求めた。
6. Kusakabe, K.; Honmura, Y.; Uesugi, S.; Tonouchi, A.; Maeda, H.; Kimura, K.-i.; Koshino, H.; Hashimoto, M. *J. Nat. Prod.* 2017, 80, 1484-1492.
7. Hehre, W. J.; Klunzinger, P.; Deppmeier, B.; 内田典孝; 橋本勝; 福士江里; 高田祐輔; 第59回天然有機化合物討論会要旨集 2017, 169.
8. ISBN978-4-902760-06-4 Spartan'16 Tutorial & User's Guide
9. Spartanのスプレッドシートでは @hart2kjを使用します。

