多肽或其衍生物的应用

本申请要求于2019年08月13日提交中国专利局、申请号为201910743680.9、发明名称为“多肽或其衍生物的应用”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用结合在本申请中。

技术领域

本发明涉及医药技术领域，特别涉及多肽或其衍生物的应用。

背景技术

癌症（恶性肿瘤）是一类严重性致死性疾病，其发病率和死亡率居高不下，严重威胁人类健康。虽然对肿瘤发生机制的研究认识正不断深入，但恶性肿瘤的临床治疗仍是世界性难题，尤其针对肿瘤转移与复发。近几年，由于恶性肿瘤早期诊断和靶向性抑制肿瘤生长治疗方案应用于临床，恶性肿瘤患者的存活率得到一定提升；同时，新一代抗肿瘤药物不断应用于临床，尤其是针对各种生长因子的中和抗体或小分子激酶抑制剂等靶向药物，在抑制肿瘤生长和转移方面起一定效果。然而，目前临床常用的抗肿瘤一线疗法：化疗和放疗，靶向性差、副作用大，且易产生治疗抗性，在恶性肿瘤临床治疗方面应用受限；而新的靶向性药物同样存在脱靶率高、毒副作用强、疗效有限等缺陷，远远不能满足临床上对抗肿瘤药物有效性和安全性的需求；此外，恶性肿瘤转移的临床治疗仍然是世界性难题。因此，靶向性高、特异性强、毒副作用小的新型抗肿瘤药物已成为抗肿瘤药物研发的重点发展方向，真正提高肿瘤的临床治疗效果和治疗可及性。

传统肿瘤分类通常以肿瘤的病发组织或器官为基础，如恶性实体瘤可分为黑色素瘤、神经胶质瘤、淋巴瘤、食管癌、肺癌、肝癌、胰腺癌、肾癌、乳腺癌、胃癌、甲状腺癌、尿路上皮癌、前列腺癌、结肠癌等。虽然病发组织器官不同，但恶性实体瘤在肿瘤病理机制特征方面存在共通之处即肿瘤微环境的形成和维持，包括肿瘤免疫抑制微环境的形成、肿瘤相关细胞活化、肿瘤相关细胞因子和胞外基质的累积等。肿瘤微环境的形成和维持在肿瘤的发生、发展以及转移过程中发挥关键作用。

肿瘤微环境是指由肿瘤细胞、肿瘤基质细胞（如：肿瘤相关纤维母细胞）、免疫细胞（如：肿瘤相关巨噬细胞）、胞外基质（如：纤粘蛋白、胶原蛋白）等组成的复杂微环境。细胞与细胞、细胞与胞外基质相互作用共同调节肿瘤微环境，促进肿瘤发生发展。在肿瘤发展初期，肿瘤细胞与肿瘤相关基质细胞的相互作用促进了肿瘤微环境的形成，肿瘤细胞通过分泌多种细胞因子（如：TGF-β、IL-10、LOX、ROS等）活化肿瘤相关基质细胞，活化的基质细胞大量表达分泌胞外基质导致肿瘤微环境中胞外基质的积累；活化的基质细胞同样分泌多种细胞因子（如：TGF-β、PDGF、VEGF、FGF、CTGF等）促进肿瘤发生发展。同时，肿瘤微环境的形成促使肿瘤细胞逃避免疫系统清除，在肿瘤微环境中存在大量免疫抑制因子（PD-L1、TGF-β、IL-10、CSF-1、

GM-CSF），如：肿瘤细胞表达分泌的程序性死亡配体 1（PD-L1）能够特异性结合细胞毒性 T 细胞表面程序性死亡分子（PD-1）进而抑制细胞毒性 T 细胞对肿瘤细胞的清除作用；来源于肿瘤细胞、肿瘤基质细胞、肿瘤相关免疫细胞等多种细胞的转化生长因子β（TGF-β）在肿瘤微环境中可以有效抑制细胞毒性 T 细胞、自然杀伤细胞（NK 细胞）、抗原提呈细胞（APC）、巨噬细胞等多种免疫细胞的免疫活性，促使肿瘤细胞逃避机体免疫系统清除。此外，肿瘤微环境的发展促进肿瘤的转移。研究证实，肿瘤发展到后期，肿瘤细胞受肿瘤微环境因素（如：胞外基质累积、细胞因子调控）的影响，肿瘤细胞间质化，肿瘤细胞中纤粘蛋白、N-钙粘蛋白、波形蛋白等细胞迁移与侵袭相关蛋白表达量增高，表现为肿瘤细胞迁移与侵袭能力增强，最终导致肿瘤细胞向机体其他部位转移即肿瘤转移（如：肺转移）。

因此，针对肿瘤微环境中的关键因子开发靶向性药物，将直接抑制或破坏肿瘤微环境，增强机体免疫系统对肿瘤的清除，阻断肿瘤的浸润和转移，实现治疗肿瘤的目的。此外，选择肿瘤微环境形成的关键因子作为药物作用靶点，将实现针对多种恶性实体瘤的广谱抗癌效果。例如：目前已上市药物 Keytruda 为抗 PD-1 抗体药物（Pembrolizumab），其通过抑制肿瘤微环境中 PD-1/PD-L1 免疫逃逸功能，增强机体免疫系统对肿瘤细胞的清除进而实现治疗肿瘤的目的；据药物适应症数据显示，目前 Keytruda 已被批准用于包括黑色素瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、经典型霍奇金淋巴瘤、肾癌、头颈鳞状细胞癌、尿路上皮癌、结直肠癌、肝细胞癌、胃癌等在内的多种恶性实体瘤适应症的临床治疗。

近年来，多肽靶向性药物已成为抗肿瘤药物研发的重点领域之一。现有抗肿瘤药物主要为化学小分子药物和抗体药物，在有效性、靶向性、特异性或毒副作用方面仍远不能满足临床抗肿瘤治疗需求。多肽药物的有效成分为具有生物活性的，一般是由少于 100 个氨基酸脱水所形成的氨基酸链，可从动植物和微生物体内分离提取、蛋白质酶解、人工合成等三种方式获得。目前的多肽药物多数源于或模拟内源性肽或其他天然肽，其结构清楚，作用机制明确，代谢产物氨基酸为机体基本组分，不会蓄积体内，毒副作用低。近年来，随着多肽合成与修饰技术的发展，人工合成多肽在制备工艺、产出率、成品纯度、特异性修饰等方面已能满足多肽药物研发的需求。多肽药物在药物研发领域具有明显的优势：与一般有机小分子药物相比，多肽药物具有活性高、用药剂量小、毒副作用低等突出优点；而与蛋白质药物相比，较小的多肽免疫原性相对较小，可化学合成，产品纯度高，质量可控。因此，开发抗肿瘤多肽靶向性药物在抗肿瘤治疗方面有明显优势，并且将是生物医药技术领域的重点研发方向。

发明内容

有鉴于此，本发明提供了多肽或其衍生物的应用。本发明提供的多肽或其衍生物（N1-N54）对肿瘤细胞的迁移能力均有抑制作用，能够抑制肿瘤细胞中波形蛋白、纤粘蛋白、N-钙黏蛋白表达，能够抑制肿瘤细胞的侵袭能力。

为了实现上述发明目的，本发明提供以下技术方案：

本发明提供了多肽或其衍生物在制备治疗预防和/或治疗肿瘤的药物中的应用，

所述多肽具有：

（I）、如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列；或

（II）、如（I）所述氨基酸序列经缺失、替换、添加和/或修饰一个或多个氨基酸获得的氨基酸序列，且与如（I）所述氨基酸序列功能相同的氨基酸序列；或

（III）、与（I）或（II）所述氨基酸序列具有 80%以上同源性的氨基酸序列。

本发明所述的多肽是指由氨基酸通过肽键相连构成的一类化合物，是不限于氨基酸数目的产物。

本发明所述的衍生物是指多肽的一种变型，在本发明中可以是对多肽序列进行氨基酸缺失、替换或添加后的产物，也可以是在多肽分子主链或侧链末端的氨基、羧基、巯基、酚羟基、咪唑基、胍基、吲哚基、甲硫基等作为修饰位点进行化学修饰后的产物。

本发明所述的化学修饰是在多肽水平上，使用合适的修饰方法和修饰剂对其进行化学修饰，使修饰后的多肽类药物的溶解度提高，稳定性增加，半衰期延长，具体可由本领域技术人员以常规方式确定。

本发明所述的对多肽 SEQ ID No.1 的氨基酸序列进行氨基酸缺失、添加、替换或修饰的目的是为了使其适于不偏离本发明在制备预防和/或治疗肿瘤的药物中的应用。

本发明对所述的氨基酸的缺失、替换、添加和/或修饰可以分别进行，也可以同时进行，可以在同一氨基酸位置进行，也可以在不同氨基酸位置进行。

本发明所述的氨基酸位置是指在多肽的氨基酸序列中，由氨基端向羧基端依次排列的氨基酸所在的位置数，但氨基酸位置是相对的，当氨基酸序列中进行氨基酸缺失或添加时，氨基酸的位置可能发生变化，这种变化可以由本领域技术人员确定。

本发明所述的用于替换或/和添加的氨基酸包括天然氨基酸和非天然氨基酸，其中，天然氨基酸指自然界存在的氨基酸，非天然氨基酸包括 D 型氨基酸及其它人工合成的氨基酸。

在本发明的一些具体实施方案中，所述缺失为对所述多肽的氨基端的氨基酸进行缺失、对所述多肽的羧基端的氨基酸进行缺失或对所述多肽的序列内部的氨基酸进行缺失中的一种或多种的组合。

在本发明的一些具体实施方案中，所述缺失为对所述多肽的氨基端的氨基酸、对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸分别进行缺失。

在本发明的一些具体实施方案中，所述缺失为对所述多肽的氨基端的氨基酸和所述多肽的羧基端的氨基酸同时进行缺失。

在本发明的一些具体实施方案中，所述缺失为对所述多肽的氨基端的氨基酸、所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行缺失。

在本发明的一些具体实施方案中，所述缺失为对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行缺失。

在本发明的一些具体实施方案中，所述缺失为对所述多肽的氨基端的氨基酸、

对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行缺失。

在本发明的一些具体实施方案中，所述缺失的氨基酸数目是 1 个，2 个，3 个，4 个，5 个，6 个，7 个，8 个或 9 个。

在本发明的一些具体实施方案中，所述多肽的氨基酸序列如 SEQ ID No.2、SEQ ID No.4、SEQ ID No.6、SEQ ID No.8、SEQ ID No.12 或 SEQ ID No.13 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.2 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时在氨基端缺失 3 个氨基酸（第 1-3 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.4 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.6 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时在序列内部缺失 3 个氨基酸（第 3 位、第 4 位、第 11 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.8 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位），同时在氨基端缺失 2 个氨基酸（第 1-2 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.12 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时在氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.13 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，所述添加为对所述多肽的氨基端的氨基酸进行添加、对所述多肽的羧基端的氨基酸进行添加或对所述多肽的序列内部的氨基酸进行添加中的一种或多种的组合。

在本发明的一些具体实施方案中，所述添加为对所述多肽的氨基端的氨基酸、对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸分别进行添加。

在本发明的一些具体实施方案中，所述添加为对所述多肽的氨基端的氨基酸和所述多肽的羧基端的氨基酸同时进行添加。

在本发明的一些具体实施方案中，所述添加为对所述多肽的氨基端的氨基酸、所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行添加。

在本发明的一些具体实施方案中，所述添加为对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行添加。

在本发明的一些具体实施方案中，所述添加为对所述多肽的氨基端的氨基酸、对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行添加。

在本发明的一些具体实施方案中，所述添加的氨基酸数目是 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个。

在本发明的一些具体实施方案中，用于添加的氨基酸包括天然氨基酸和/或非天

然氨基酸。

在本发明的一些具体实施方案中，所述多肽的氨基酸序列如 SEQ ID No.17 或如 SEQ ID No.18 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端添加 2 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.17 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端添加 1 个氨基酸，同时在羧基端添加 1 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.18 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，所述替换为对所述多肽的氨基端的氨基酸进行替换、对所述多肽的羧基端的氨基酸进行替换或对所述多肽的序列内部的氨基酸进行替换中的一种或多种的组合。

在本发明的一些具体实施方案中，所述替换为对所述多肽的氨基端的氨基酸、对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸分别进行替换。

在本发明的一些具体实施方案中，所述替换为对所述多肽的氨基端的氨基酸和所述多肽的羧基端的氨基酸同时进行替换。

在本发明的一些具体实施方案中，所述替换为对所述多肽的氨基端的氨基酸、所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行替换。

在本发明的一些具体实施方案中，所述替换为对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行替换。

在本发明的一些具体实施方案中，所述替换为对所述多肽的氨基端的氨基酸、对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行替换。

在本发明的一些具体实施方案中，所述替换的氨基酸数目是 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个。

在本发明的一些具体实施方案中，用于替换的氨基酸包括天然氨基酸和/或非天然氨基酸。

在本发明的一些具体实施方案中，所述修饰为对所述多肽的氨基端的氨基酸进行修饰、对所述多肽的羧基端的氨基酸进行修饰或对所述多肽的序列内部的氨基酸进行修饰中的一种或多种的组合。

在本发明的一些具体实施方案中，所述修饰为对所述多肽的氨基端的氨基酸、对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸分别进行修饰。

在本发明的一些具体实施方案中，所述修饰为对所述多肽的氨基端的氨基酸和所述多肽的羧基端的氨基酸同时进行修饰。

在本发明的一些具体实施方案中，所述修饰为对所述多肽的氨基端的氨基酸、所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行修饰。

在本发明的一些具体实施方案中，所述修饰为对所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行修饰。

在本发明的一些具体实施方案中，所述修饰为对所述多肽的氨基端的氨基酸、对

所述多肽的羧基端的氨基酸、对所述多肽的序列内部的氨基酸同时进行修饰。

在本发明的一些具体实施方案中，所述修饰为化学修饰。

在本发明的一些具体实施方案中，所述的化学修饰能够改变肽链的主链结构或侧链基团，包括乙酰化、酰胺化、糖基化、聚乙二醇（PEG）修饰、脂肪酸修饰或本领域已知的其它多肽修饰技术中的一种或多种的组合。

本发明所述的乙酰化和酰胺化是多肽常用的主链末端修饰方法，通常是在多肽主链 N 端乙酰化，多肽主链 C 端酰胺化。

本发明所述的糖基化修饰是指将糖结构与蛋白质多肽分子中某些特殊功能团以共价键相连接，包括 N-糖基化、O-糖基化、S-糖基化、C-糖基化以及糖基磷脂酰肌醇修饰等。 所述的 N-糖基化是通过天冬酰胺使侧链的酰胺氮进行连接，O-糖基化是与丝氨酸或苏氨酸残基上的氧相连。所述的糖结构包括各种单糖、寡糖和多糖。

本发明所述的 PEG 修饰是指以多肽主链氨基、侧链氨基、主链羧基、侧链羧基、咪唑基、巯基及羟基等官能团为修饰位点选择相应类型的 PEG 进行修饰。所述的 PEG 是由环氧乙烷聚合的大分子聚合物，不限结构，也不限分子量。所述 PEG 修饰类型包括直链 PEG，支链 PEG，同双官能团 PEG 衍生物，异官能团双取代 PEG 衍生物和多臂官能团 PEG 衍生物等。

本发明所述的脂肪酸修饰是指将脂肪酸结构与蛋白质多肽分子中的某些特殊官能团以共价连接，包括氨基、羧基、巯基和羟基等的修饰。脂肪酸修饰可分为不饱和脂肪酸 和饱和脂肪酸修饰，饱和脂肪酸主要以肉豆蔻酸、棕榈酸进行修饰；不饱和脂肪酸修饰主要 是以油酸、亚油酸等进行修饰。

本发明所述的多肽修饰可以使用本领域技术人员所熟知的方法。本发明所述的修饰目的是为了改变多肽序列的理化性质，提高多肽的成药性。

在本发明的一些具体实施方案中，所述修饰的氨基酸数目是 1 个，2 个，3 个，4 个，5 个，6 个，7 个，8 个或 9 个。

在本发明的一些具体实施方案中，用于修饰的氨基酸包括天然氨基酸和/或非天然氨基酸。

本发明提供的多肽或其衍生物是对 SEQ ID No.1 所示多肽进行氨基酸缺失、替换、添加和/或修饰的多肽。其可以是对 SEQ ID No.1 所示多肽分别进行缺失、替换、添加或修饰。也可以是对 SEQ ID No.1 所示多肽同时进行缺失、替换、添加或修饰中的至少两种处理。缺失、替换、添加或修饰的位置可以是在多肽 SEQ ID NO: 1 的氨基酸序列的氨基端、羧基端或者氨基酸序列内部，分别进行氨基酸缺失、替换、添加或修饰；也可以是在多肽 SEQ ID NO: 1 的氨基酸序列的氨基端和羧基端，同时进行氨基酸缺失、替换、添加或修饰；也可以是在多肽 SEQ ID NO: 1 的氨基酸序列的氨基端和序列内部，同时进行氨基酸缺失、替换、添加或修饰；也可以是在多肽 SEQ ID NO: 1 的氨基酸序列的羧基端和序列内部，同时进行氨基酸缺失、替换、添加或修饰；也可以是在多肽 SEQ ID NO: 1 的氨基酸序列的氨基端、羧基端和序列内部，同时进行氨基酸缺失、替换、添加或修饰。所述的氨基酸缺失、替换、添加或修饰可以在所述

多肽的氨基酸序列的包括氨基端、羧基端和序列内部的任意氨基酸位置进行氨基酸缺失、替换、添加或修饰。

在本发明的一些具体实施方案中，是对如 SEQ ID No.1 所示氨基酸序列的多肽同时进行缺失和添加氨基酸，同时进行替换和添加氨基酸，同时进行缺失和替换氨基酸，同时进行缺失和修饰氨基酸，同时进行添加和修饰氨基酸，同时进行替换和修饰氨基酸，同时进行缺失、添加和修饰氨基酸，同时进行替换、添加和修饰氨基酸，同时进行缺失、替换和修饰氨基酸或同时进行缺失、替换、添加和修饰氨基酸中的一种或多种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述多肽的氨基酸序列如 SEQ ID No.5、如 SEQ ID No.14、如 SEQ ID No.19、如 SEQ ID No.20、如 SEQ ID No.21、如 SEQ ID No.7、如 SEQ ID No.15、如 SEQ ID No.16、如 SEQ ID No.25、如 SEQ ID No.26、如 SEQ ID No.22、如 SEQ ID No.23、如 SEQ ID No.24、如 SEQ ID No.3、如 SEQ ID No.9、如 SEQ ID No.10、如 SEQ ID No.11、如 SEQ ID No.28、如 SEQ ID No.29、如 SEQ ID No.30、如 SEQ ID No.31、如 SEQ ID No.27、如 SEQ ID No.37、如 SEQ ID No.38、如 SEQ ID No.39、如 SEQ ID No.32、如 SEQ ID No.33、如 SEQ ID No.40、如 SEQ ID No.41、如 SEQ ID No.42、如 SEQ ID No.43、如 SEQ ID No.44、如 SEQ ID No.34、如 SEQ ID No.35、如 SEQ ID No.36、如 SEQ ID No.50、如 SEQ ID No.51 所示、如 SEQ ID No.52、如 SEQ ID No.53 所示、如 SEQ ID No.54、如 SEQ ID No.45、如 SEQ ID No.46、如 SEQ ID No.48、如 SEQ ID No.49 或如 SEQ ID No.47 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，对如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列同时进行缺失和添加氨基酸，获得的多肽具有如 SEQ ID No.5、如 SEQ ID No.14、如 SEQ ID No.19、如 SEQ ID No.20 或如 SEQ ID No.21 所示的氨基酸序列。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端添加 1 个氨基酸，同时在氨基端缺失 3 个氨基酸（第 1-3 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.5 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位），同时在羧基端添加 1 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.14 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位），同时在羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时在羧基端添加 2 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.19 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端添加 1 个氨基酸，同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.20 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位），同时在羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时在氨基端添加 1 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.21 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，对如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列同时进行替换和添加氨基酸，获得的多肽具有如如 SEQ ID No.7、如 SEQ ID No.15、如 SEQ ID No.16、如 SEQ ID No.25 或如 SEQ ID No.26 所示的核苷酸序列。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端添加 1 个氨基酸，同时在序列内部第 15 位替换 1 个氨基酸（A15R）获得的，其序列如 SEQ ID No.7 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端第 18 位替换 1 个氨基酸（N18R），同时在羧基端添加 1 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.15 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 7 位替换 1 个氨基酸（A7R），同时在羧基端添加 1 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.16 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端替换 1 个氨基酸（N18R），同时在羧基端添加 2 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.25 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 15 位替换 1 个氨基酸（A15R），同时在氨基端添加 1 个氨基酸，同时在羧基端添加 1 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.26 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，对如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列同时进行缺失和替换氨基酸，获得的多肽具有如如 SEQ ID No.22、如 SEQ ID No.23 或如 SEQ ID No.24 所示的核苷酸序列。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 7 位替换 1 个氨基酸（A7R），同时在氨基端缺失 3 个氨基酸（第 1-3 位），同时在羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.22 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 7 位替换 1 个氨基酸（A7R），同时在序列内部第 11 位缺失 1 个氨基酸，同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.23 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 7 位替换 1 个氨基酸（A7R），同时在氨基端缺失 2 个氨基酸（第 1-2 位），同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位）获得的，其序列如 SEQ ID No.24 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，对如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列同时进行缺失和修饰氨基酸，获得的多肽具有如如 SEQ ID No.3、如 SEQ ID No.9、如 SEQ ID No.10、如 SEQ ID No.11、如 SEQ ID No.28、如 SEQ ID No.29、如 SEQ ID No.30 或如 SEQ ID No.31 所示的核苷酸序列。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序

列的羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位），同时在氨基端（第 1 位）进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.3 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时在氨基端（第 1 位）进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.9 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时在氨基端缺失 3 个氨基酸（第 1-3 位）之后，在序列羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.10 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时在氨基端缺失 3 个氨基酸（第 1-3 位）之后，在氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.11 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 2 个氨基酸（第 1-2 位），同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位）后，同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.28 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位），同时在羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.29 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位），同时在羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.30 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部缺失 3 个氨基酸（第 3 位、第 4 位、第 11 位），同时在羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.31 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，对如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列同时进行添加和修饰氨基酸，获得的多肽具有如如 SEQ ID No.27、如 SEQ ID No.37、如 SEQ ID No.38 或如 SEQ ID No.39 所示的核苷酸序列。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端添加 1 个氨基酸后，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.27 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端添加 2 个氨基酸，同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.37 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端添加 1 个氨基酸，同时在羧基端添加 1 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙

二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.38 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端添加 2 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.39 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，对如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列同时进行缺失、添加和修饰氨基酸，获得的多肽具有如如 SEQ ID No.32、如 SEQ ID No.33、如 SEQ ID No.40、如 SEQ ID No.41、如 SEQ ID No.42、如 SEQ ID No.43 或如 SEQ ID No.44 所示的核苷酸序列。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 3 个氨基酸（第 1-3 位），同时在羧基端添加 1 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.32 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位），同时在羧基端添加 1 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.33 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位），同时在羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰，同时在羧基端添加 2 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.40 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端添加 2 个氨基酸，同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位），同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.41 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位），同时在羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰，同时在羧基端添加 1 个氨基酸获得的，其序列如 SEQ ID No.42 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的氨基端添加 1 个氨基酸，同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位），同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.43 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部（第 2 位与第 3 位之间）添加 1 个氨基酸，同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位），同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.44 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，对如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列同时进行替换、添加和修饰氨基酸，获得的多肽具有如 SEQ ID No.34、如 SEQ ID No.35、如 SEQ ID No.36、如 SEQ ID No.50、如 SEQ ID No.51 所示、如 SEQ ID No.52、如 SEQ ID No.53 所示或如 SEQ ID No.54 所示的核苷酸序列。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序

列的序列内部第 15 位替换 1 个氨基酸（A15R），同时在羧基端添加 1 个氨基酸，同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.34 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 15 位替换 1 个氨基酸（A15R），同时在羧基端添加 1 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.35 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 7 位替换 1 个氨基酸（A7R），同时在羧基端添加 1 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.36 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端替换 1 个氨基酸（N18R），同时在羧基端添加 2 个氨基酸，同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.50 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 15 位替换 1 个氨基酸（A15R），同时在羧基端添加 1 个氨基酸，同时在氨基端添加 1 个氨基酸，同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.51 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端替换 1 个氨基酸（N18R），同时在羧基端添加 2 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.52 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部的第 15 位替换 1 个氨基酸（A15R），同时在氨基端添加 1 个氨基酸，同时在羧基端添加 1 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.53 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部的第 7 位替换 1 个氨基酸（A7R），同时在羧基端添加 2 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.54 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，对如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列同时进行缺失、替换和修饰氨基酸，获得的多肽具有如如 SEQ ID No.45、如 SEQ ID No.46、如 SEQ ID No.48 或如 SEQ ID No.49 所示的核苷酸序列。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 11 位替换 1 个氨基酸（V11R），同时在氨基端缺失 5 个氨基酸（第 1-5 位），同时在羧基端缺失 4 个氨基酸（第 15-18 位），同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.45 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 7 位替换 1 个氨基酸（A7R），同时在序列内部缺失 1 个氨基酸（第 11 位），同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位），同时对氨基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.46 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序

列的序列内部第 7 位替换 1 个氨基酸（A7R），同时在序列内部缺失 1 个氨基酸（第 11 位），同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位），同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.48 所示。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的序列内部第 7 位替换 1 个氨基酸（A7R），同时在氨基端缺失 2 个氨基酸（第 1-2 位），同时在羧基端缺失 1 个氨基酸（第 18 位），同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.49 所示。

在本发明的一些具体实施方案中，对如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列同时进行缺失、替换、添加和修饰氨基酸，获得的多肽具有如 SEQ ID No.47 所示的核苷酸序列。

在本发明的一个具体实施方案中，所述多肽是在如 SEQ ID No.1 所示的氨基酸序列的羧基端替换 1 个氨基酸（N18R），同时在氨基端缺失 2 个氨基酸（第 1-2 位），同时在羧基端添加 1 个氨基酸，同时对羧基端进行聚乙二醇（PEG）修饰获得的，其序列如 SEQ ID No.47 所示。

在本发明中，所述多肽与（I）或（II）所述氨基酸序列具有 80%以上同源性的氨基酸序列；优选的，所述多肽与（I）或（II）所述氨基酸序列具有 85%以上同源性的氨基酸序列；更优选的，所述多肽与（I）或（II）所述氨基酸序列具有 90%以上同源性的氨基酸序列；更优选的，所述多肽与（I）或（II）所述氨基酸序列具有 95%以上同源性的氨基酸序列；最优选的，所述多肽与（I）或（II）所述氨基酸序列具有 97%以上同源性的氨基酸序列。

本发明中所述多肽或其衍生物的制备方法包括自然提取、酶水解法、发酵法、基因重组表达、化学合成。

在本发明的一些具体实施方案中，所述肿瘤包括头颈癌、呼吸系统肿瘤、消化道肿瘤、泌尿系统肿瘤、男性器官肿瘤、女性器官肿瘤、皮肤癌、内皮细胞肿瘤、脑部肿瘤、神经系统肿瘤、内分泌器官肿瘤中的一种或多种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述头颈癌包括唇癌、口腔癌、唾液腺癌、口咽癌、鼻咽癌或下咽癌中的一种或多种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述呼吸系统肿瘤包括喉癌、肺癌或间皮瘤中的一种或多种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述消化道肿瘤包括结直肠癌、肛门癌、食管癌、胃癌、肝癌、胆囊癌或胰腺癌中的一种或多种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述泌尿系统肿瘤包括肾癌或膀胱癌中的一种或两种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述男性器官肿瘤包括阴茎癌、前列腺癌或睾丸癌中的一种或多种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述女性器官肿瘤包括乳腺癌、外阴癌、阴道癌、宫颈癌、子宫体癌或卵巢癌中的一种或多种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述皮肤癌包括皮肤黑色素瘤或非黑色素瘤皮肤癌中的一种或两种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述内皮细胞肿瘤包括卡波西肉瘤；所述脑部肿瘤包括脑癌；所述神经系统肿瘤包括中枢神经系统肿瘤；所述内分泌器官肿瘤包括甲状腺癌。

在本发明的一些具体实施方案中，所述药物包括所述多肽或其衍生物作为单一活性成分，所述多肽或其衍生物互相联用，所述多肽或其衍生物与其他药物联合作为活性成分，经化学标记或生物标记的所述多肽或其衍生物形成的结合物作为活性成分，所述多肽或其衍生物或所述结合物与固体介质或半固体介质偶联制得的偶联物作为活性成分中的一种或多种，以及药学上可接受的载体。

本发明提供的预防和/或治疗肿瘤的药物中包含安全和有效量的本发明所述的多肽或其衍生物。安全和有效量是指在合理的医学判断范围内，给予所需对象足以有效且可避免严重副作用的活性成分含量。虽然其安全和有效量随如下因素变化：所选择的多肽（例如，考虑多肽的结构、稳定性和半衰期）；选择的给药途径；待治疗 的病症及严重程度；待治疗对象的年龄、体型、体重和身体状况；待治疗对象的病史；治疗持续时间；期望的治疗效果及类似因素，但可由本领域技术人员以常规方式确定。

本发明提供的多肽或其衍生物可以直接作为原料药使用，也可以通过药学上可接受的载体来制备预防和/或治疗肿瘤的药物。

在本发明的一些具体实施方案中，所述药学上可接受的载体包括稀释剂、填充剂、赋形剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、泡腾剂、表面活性剂、吸收促进剂、润滑剂、吸附载体、缓释微球、埋植剂、原位微球、脂质体、微乳、原位水凝胶、纳米粒、蛋白酶抑制剂、生物黏附剂、融合蛋白、抗体或多肽中的一种或两者以上的混合物。

在本发明的一些具体实施方案中，所述药物的剂型包括片剂、注射剂、胶囊剂、颗粒剂、眼用制剂、吸入制剂、软膏剂、乳膏剂、喷雾剂、气雾剂、凝胶剂、散剂、涂剂、植入剂、洗剂中的一种或多种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述药物的给药途径包括口服给药、肺部给药、鼻腔给药、经皮给药、眼部给药、静脉滴注、腹腔注射、皮下注射或肌肉注射中的一种或多种。

在本发明的一些具体实施方案中，所述肿瘤的细胞包括但不限于：人肺癌细胞（95D）、人肺鳞癌细胞（NCI-H226）、人肺癌细胞（A549）、荧光素酶标记人肺癌细胞 A549-luc 细胞、人胰腺癌细胞（PANC-1）、人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）、人肝癌细胞（HepG2）、人乳腺癌细胞（MDA-MB-453）、人乳腺癌细胞（MDA-MB-231）、人乳腺癌细胞（MCF-7）、人黑色素瘤细胞（A375）、人口腔表皮样癌细胞（KB）、人咽鳞癌细胞（Fadu）、人结肠癌细胞（HCT-116）、人甲状腺癌细胞（FRO）、人前列腺癌细胞（22RV1）。

本发明中，所用肿瘤细胞：A549-luc 细胞来源于上海美轩生物科技有限公司，其余肿瘤细胞来源于中国科学院细胞库、美国典型培养物保藏中心（ATCC）。所用的实

验动物： 4-6 周龄雌性免疫缺陷小鼠（BALB/c-nu/nu，北京维通利华实验动物技术有限公司）。肿瘤动物模型：皮下异种移植瘤动物模型，小鼠皮下接种细胞数量约为 2×10^6/200 μL，当皮下瘤块体积大于 100 mm^3 时开始进行随机分组给药实验；当肿瘤模型对照组肿瘤瘤块体积达到 2000 mm^3 或动物死亡时治疗结束，并进行动物解剖剥离肿瘤瘤块，测量瘤块重量和体积；整个实验期间每隔一天进行小鼠笼旁观察并测量体重。转移瘤动物模型，尾静脉接种肿瘤细胞数量约为 2×10^6/100 μL，接种 1 小时后进行分组给药实验；实验持续时间 28 天，治疗结束后进行小鼠活体肺部荧光成像；整个实验期间每隔一周进行小鼠笼旁观察并检测小鼠肺部荧光强度。给药方式：瘤内注射给药或静脉注射给药，给药剂量和频次根据具体实验设计确定。实验分组：模型对照组，多肽或其衍生物治疗实验组（N1-N54）；实验动物数量：每个治疗组 5 只实验动物。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人非小细胞肺癌（A549）迁移能力抑制效果。图 1 为细胞迁移显微照片，表 1 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物（N1-N54）处理 48 h 后，A549 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 A549 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肺癌细胞（95D）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 2 为细胞迁移显微照片，表 2 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，95D 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 95D 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肺鳞癌细胞（NCI-H226）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 3 为细胞迁移显微照片，表 3 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，NCI-H226 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 NCI-H226 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为肺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验，肿瘤细胞为人肺癌细胞 A549 细胞系，给药方式为瘤内注射给药。实验分组：肿瘤模型对照组和多肽或其衍生物治疗实验组（多肽序列：N1-N12）。实验组给药剂量：N1-N12 治疗组为 5 mg/kg，每隔一天给药一次，治疗时间持续 10 天。表 4 为肿瘤瘤块重量和体积测定值统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，与模型对照组相比，N1-N12 治疗组肿瘤瘤块重量和体积均有不同程度的显著性减小，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）有效抑制了人肺癌细胞相关肿瘤的发展。

本发明的一个实施例为肺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验。肿瘤细胞为人肺癌细胞 A549 细胞系，给药方式为瘤内注射给药。实验分组：肿瘤模型对照组和多肽或其衍生物治疗实验组（多肽序列：N13-N32）。实验组给药剂量：N13-N32 治疗组为 5 mg/kg，每隔一天给药一次，治疗持续时间为 20 天。表 5 为肿瘤瘤块重量和体

积测定值统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，与模型对照组相比，N13-N32 治疗组肿瘤瘤块重量和体积均有不同程度的显著性减小，表明本发明所述多肽或其衍生物（N13-N32）有效抑制了人肺癌细胞相关肿瘤的发展。

本发明的一个实施例为肺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验，肺癌细胞为人肺癌细胞 A549 细胞系，给药方式为静脉注射给药。本实施例共涉及 3 次实验，分别评估 N1-N15、N16-N30 和 N31-N54，其中所涉及实验流程、给药方式、给药剂量与频次以及指标检测方法等 3 次实验均保持一致。实验分组为模型对照组和多肽或其衍生物治疗组（N1-N15、N16-N30、或 N31-N54）。实验组给药剂量：N1-N54 治疗组为 60 mg/kg，每隔一天给药一次，治疗持续时间为 20 天。实验结果如图 4、表 6 所示，图 4 显示了治疗结束后各组肿瘤瘤块代表性照片，表 6 为肿瘤瘤块重量和体积测定值统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，与模型对照组相比，N1-N54 治疗组肿瘤瘤块重量和体积均有不同程度的显著性减小，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）有效抑制了人肺癌细胞相关肿瘤的发展。

本发明的一个实施例为肺癌转移瘤动物模型药效试验，肺癌细胞为人肺癌细胞 A549-luc 细胞系，给药方式为静脉注射给药。实验分组为模型对照组和多肽或其衍生物治疗实验组（N1-N12）。给药剂量：N1-N12 治疗组为 30 mg/kg，每隔一天给药一次。图 5 显示了治疗前后后各组实验动物活体肺部荧光成像照片。与模型对照组相比，N1-N12 治疗组实验动物肺部荧光强度均有不同程度的减弱，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）可有效抑制肺部转移肿瘤的发展。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人胰腺癌细胞（PANC-1）迁移能力抑制效果。图 6 为细胞迁移显微照片，表 7 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，PANC-1 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 PANC-1 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为 Transwell 细胞迁移实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人胰腺癌细胞（PANC-1）迁移能力抑制效果。图 7 为迁移至半透膜下表面的细胞在显微照片，表 8 是对迁移至半透膜下表面的细胞数量统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示 N1-N54 处理组迁移至半透膜下表面细胞数显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）抑制了人胰腺癌细胞的迁移能力。

本发明的一个实施例为 Transwell 细胞侵袭实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人胰腺癌细胞（PANC-1）侵袭能力抑制效果。图 8 为迁移至半透膜下表面的细胞在显微照片，表 9 是对迁移至半透膜下表面的细胞数量统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示 N1-N54 处理组迁移至半透膜下表面细胞数显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）抑制了人胰腺癌细胞的侵袭能力。

本发明的一个实施例为胰腺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验，胰腺癌细胞为人胰腺癌细胞 PANC-1 细胞系，给药方式为瘤内注射给药。实验分组分为模型对照组和多肽或其衍生物治疗组（N1-N12）。N1-N12 治疗组给药剂量为 5 mg/kg，每隔一

天给药一次，瘤内注射给药。治疗持续时间为 24 天。实验结果如图 9、表 10 所示，图 9 显示了治疗结束后各组肿瘤瘤块照片，表 10 为肿瘤瘤块重量和体积测定值统计结果，结果显示，N1-N12 治疗组肿瘤瘤块重量和体积均比模型对照组组小，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）有效抑制了人胰腺癌细胞相关肿瘤的发展。

本发明的一个实施例为 Transwell 细胞迁移实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）迁移能力抑制效果。图 10 为迁移至半透膜下表面的细胞在显微照片，表 11 是对迁移至半透膜下表面的细胞数量统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示 N1-N54 处理组迁移至半透膜下表面细胞数显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）抑制了人肝癌细胞的迁移能力。

本发明的一个实施例为 Transwell 细胞侵袭实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）侵袭能力抑制效果。图 11 为迁移至半透膜下表面的细胞在显微照片，表 12 是对迁移至半透膜下表面的细胞数量统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示 N1-N54 处理组迁移至半透膜下表面细胞数显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）抑制了人肝癌细胞的侵袭能力。

本发明的一个实施例对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）中纤粘蛋白表达抑制试验。体外培养 SK-HEP-1 细胞，收集对数生长期细胞，将细胞均匀铺于 24 孔板，保证每孔细胞数量为 1-3×10^5，于细胞培养箱中培养 4-5 h，对照组加入 PBS 作为对照，实验组上室加入含多肽或其衍生物（N1-N12）的 PBS 溶液，小室内多肽或其衍生物终浓度为 10 μM，继续孵育 24 小时后收集细胞并提取总蛋白，ELISA 法检测总蛋白中纤粘蛋白含量。结果如图 12、表 13 所示，N1-N12 处理组纤粘蛋白显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）抑制了人肝癌细胞中纤粘蛋白表达。

本发明的一个实施例为多肽或其衍生物（N1-N12）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）中 N-钙黏蛋白表达抑制实验。结果如图 13、表 14 所示，N1-N12 处理组 N-钙黏蛋白显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）抑制了人肝癌细胞中 N-钙黏蛋白表达。

本发明的一个实施例为多肽或其衍生物（N1-N12）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）中波形蛋白表达抑制实验。结果如图 14、表 15 所示，N1-N12 处理组波形蛋白显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）抑制了人肝癌细胞中波形蛋白表达。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肝癌细胞（HepG2）迁移能力抑制效果。图 15 为细胞迁移显微照片，表 16 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，HepG2 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 HepG2 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人乳腺癌细胞（MDA-MB-453）迁移能力抑制效果。图 16 为细胞迁移显微照片，表 17 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，MDA-MB-453

的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 MDA-MB-453 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人乳腺癌细胞（MDA-MB-231）迁移能力抑制效果。图 17 为细胞迁移显微照片，表 18 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，MDA-MB-231 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物对 MDA-MB-231 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人乳腺癌细胞（MCF-7）迁移能力抑制效果。图 18 为细胞迁移显微照片，表 19 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，MCF-7 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 MCF-7 细迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人黑色素瘤细胞（A375）迁移能力抑制效果。图 19 为细胞迁移显微照片，表 20 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，A375 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 A375 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人口腔表皮样癌细胞（KB）迁移能力抑制效果。图 20 为细胞迁移显微照片，表 21 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，KB 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 KB 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人咽鳞癌细胞（Fadu）迁移能力抑制效果。图 21 为细胞迁移显微照片，表 22 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，Fadu 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 Fadu 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人结肠癌细胞（HCT-116）迁移能力抑制效果。图 22 为细胞迁移显微照片，表 23 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，HCT-116 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物对 HCT-116 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人甲状腺癌细胞（FRO）迁移能力抑制效果。图 23 为细胞迁移显微照片，表 24 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，FRO 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 FRO 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人前列腺癌细胞（22RV1）迁移能力抑制效果。图 24 为细胞迁移显微照片，表 25 为迁移率统计结果，结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，22RV1 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 22RV1 细胞迁移能力均有抑制作用。

本发明的一个实施例为高剂量急性毒性试验，结果表明静脉注射 N1-N54 任一成分均不会对小鼠产生相关的器官毒性。

本发明的一个实施例为对小鼠凝血功能影响实验，结果见表 26，N1 至 N12 各给药组与对照组的活化凝血时间（ACT）没有明显变化，表明多肽药物对小鼠凝血功能无影响。

本发明的一个实施例为药物免疫原性检测，结果见表 27，N1 至 N12 各给药组分别于给药后第 14 天和第 25 天与对照组相比，IgG 含量无明显变化，表明多肽药物在体内几乎不产生免疫原性。

附图说明

为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案，下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍。

图 1 是实施例 6 人肺癌细胞（A549）细胞迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人肺癌细胞（A549）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人肺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 2 是实施例 7 人肺癌细胞（95D）细胞迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人肺癌细胞（95D）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人非小细胞肺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 3 是实施例 8 人肺鳞癌细胞（NCI-H226）细胞迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人肺鳞癌细胞（NCI-H226）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人肺鳞癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 4 是实施例 11 实验动物皮下肿瘤剥离后瘤块照片，该图显示了给药方式为静脉注射给药时，本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对肺癌细胞皮下瘤生长的抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制肺癌细胞相关肿瘤生长；图中分为两组：模型对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；药物用量：N1-N54，60 mg/kg，每隔一天给药一次；

图 5 是实施例 12 实验动物活体荧光检测结果图，该图显示了给药方式为静脉注

射给药时，本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）对肺癌转移瘤生长的抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）能够显著抑制肺部肿瘤的形成；图中分为两组：模型对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N12）；实验组药物用量：N1-N12，60 mg/kg，每隔一天给药一次；

图 6 实施例 13 人胰腺癌细胞（PANC-1）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人胰腺癌细胞（PANC-1）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人胰腺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 7 实施例 14 人胰腺癌细胞（PANC-1）发生迁移细胞的显微照片（Transwell 细胞迁移实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人胰腺癌细胞（PANC-1）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人胰腺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 24 小时；

图 8 实施例 15 人胰腺癌细胞（PANC-1）发生侵袭的细胞显微照片（Transwell 细胞侵袭实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人胰腺癌细胞（PANC-1）侵袭能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人胰腺癌细胞侵袭行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 24 小时；

图 9 实施例 16 实验动物皮下肿瘤剥离后瘤块照片，该图显示了给药方式为瘤内注射给药时，本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）对胰腺癌细胞皮下瘤生长抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）能够显著抑制胰腺肿瘤生长；图中分为两组：模型对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N12）；实验组药物用量： N1-N12，60 mg/kg，每隔一天给药一次；

图 10 实施例 17 人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）发生迁移细胞的显微照片（Transwell 细胞迁移实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人肝腹水腺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 24 小时；

图 11 实施例 18 人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）发生侵袭的细胞显微照片（Transwell 细胞侵袭实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）侵袭能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人肝腹水腺癌细胞侵袭行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 24 小时；

图 12 实施例 19 人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）纤粘蛋白（Fibronectin）表达量

测定结果图，该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1） 纤粘蛋白表达抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）能够有效抑制肝癌细胞表达纤粘蛋白；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N12）；实验组药物用量：N1-N12，10 μM，处理时间为 24 小时；

图 13 实施例 20 人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1） N-钙粘蛋白（N-Cadherin）表达量测定结果图，该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1） N-钙粘蛋白表达抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）能够有效抑制肝癌细胞表达 N-钙粘蛋白；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N12）；实验组药物用量：N1-N12，10 μM，处理时间为 24 小时；

图 14 实施例 21 人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1） 波形蛋白（Vimentin）表达量测定结果图，该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1） 波形蛋白表达抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）能够有效抑制肝癌细胞表达波形蛋白；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N12）；实验组药物用量：N1-N12，10 μM，处理时间为 24 小时；

图 15 实施例 22 人肝癌细胞（HepG2）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人肝癌细胞（HepG2）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人肝癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 16 实施例 23 人乳腺癌细胞（MDA-MB-453）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人乳腺癌细胞（MDA-MB-453）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人乳腺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 17 实施例 24 人乳腺癌细胞（MDA-MB-231）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人乳腺癌细胞（MDA-MB-231）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人乳腺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 18 实施例 25 人乳腺癌细胞（MCF-7）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人乳腺癌细胞（MCF-7）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人乳腺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 19 实施例 26 人黑色素瘤细胞（A375）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人黑色素瘤细胞（A375）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人黑色素瘤细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 20 实施例 27 人口腔表皮样癌细胞（KB）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人口腔表皮样癌细胞（KB）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人口腔表皮样癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 21 实施例 28 人咽鳞癌细胞（Fadu）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人咽鳞癌细胞（Fadu）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人咽鳞癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 22 实施例 29 人结肠癌细胞（HCT 116）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人结肠癌细胞（HCT 116）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人结肠癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 23 实施例 30 人甲状腺癌细胞（FRO）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人甲状腺癌细胞（FRO）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人甲状腺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 24 实施例 31 人前列腺癌细胞（22RV1）发生迁移照片（细胞划痕实验），该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对人前列腺癌细胞（22RV1）迁移能力抑制试验结果，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）能够显著抑制人前列腺癌细胞迁移行为；图中分为两组：对照组；多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；实验组药物用量：N1-N54，10 μM，处理时间为 48 小时；

图 25 为实施例 32 实验动物脑组织病理照片，该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对小鼠脑组织无药物毒性作用；

图 26 为实施例 32 实验动物心脏组织病理照片，该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对小鼠心脏组织无药物毒性作用；

图 27 为实施例 32 实验动物肝组织病理照片，该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对小鼠肝组织无药物毒性作用；

图 28 为实施例 32 实验动物肺组织病理照片，该图显示了本发明所述多肽或其衍

生物（N1-N54）对小鼠肺组织无药物毒性作用；

图 29 为实施例 32 实验动物肾组织病理照片，该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对小鼠肾组织无药物毒性作用；

图 30 为实施例 32 实验动物脾脏组织病理照片，该图显示了本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）对小鼠脾脏组织无药物毒性作用。

具体实施方式

本发明公开了多肽或其衍生物的应用，本领域技术人员可以借鉴本文内容，适当改进工艺参数实现。特别需要指出的是，所有类似的替换和改动对本领域技术人员来说是显而易见的，它们都被视为包括在本发明。本发明的方法及应用已经通过较佳实施例进行了描述，相关人员明显能在不脱离本发明内容、精神和范围内对本文所述的方法和应用进行改动或适当变更与组合，来实现和应用本发明技术。

除非另有定义，本文使用的所有科技术语具有本领域普通技术人员所理解的相同含义。关于本领域的定义及术语，专业人员具体可参考 Current Protocols in Molecular Biology（Ausubel）。氨基酸残基的缩写是本领域中所用的指代 20 个常用 L-氨基酸之一的标准 3 字母和/或 1 字母代码。

本发明提供的多肽或其衍生物的应用中所用试剂均可由市场购得。

下面结合实施例，进一步阐述本发明：

实施例 1 多肽组分制备

使用多肽固相合成仪，以 Fmoc 保护的树脂为起始原料，采用 Fmoc 固相合成法按序列顺序偶联氨基酸，合成全保护的肽树脂，所用氨基酸均为 L -氨基酸；使用常用切割试剂切割肽树脂，将多肽从树脂上裂解下来并去除侧链保护基， 离心干燥得到多肽粗品；然后使用制备型 HPLC 纯化粗品肽，收集特定的组分，冷冻干燥得到多肽产品。

PEG 修饰方法：分别称取 mPEG-SC 和多肽（摩尔比为 1.5-2.0∶1）置于 40mL-100mL PBS 缓冲溶液（ pH 5-8.5）中，4℃条件下过夜反应，使用半制备型高效液相纯化反应产物，收集目标产物，于-70℃低温冰箱预冻过夜后使用冷冻干燥机冻干 30h 左右，获得 PEG 修饰后的多肽产物。

实施例 2 抑制肿瘤细胞迁移药效实验—细胞划痕实验

在细胞划痕实验中，细胞迁移率与药物组份对肿瘤细胞迁移能力抑制效果成负相关关系。细胞迁移抑制实验方法描述如下：体外培养肿瘤细胞并收集对数生长期细胞，将细胞均匀铺于 24 孔板，每孔细胞数量为 1-2×10^5，于细胞培养箱中培养至形成单层细胞；用划痕工具在单层细胞上划出呈“一”字的划痕，PBS 清洗 1-3 次后加入含特定试验组分的培养基（含 2%胎牛血清）。实验分组：PBS 对照组；10 μM 多肽或其衍生物处理实验组（N1-N54）；每实验组设 3 个独立平行孔，于细胞培养箱中继续培养 48 h；分别在 0 h、48 h 用倒置显微镜观察并拍照，每孔拍摄至少拍摄 3 张代表性照片；用 ImageJ 软件统计细胞的迁移距离，并计算细胞迁移率：细胞迁移率（%）=（原划

痕宽度-现划痕宽度）/原划痕宽度×100 。

实施例 3 抑制肿瘤细胞迁移药效试验—Transwell 细胞迁移实验

Transwell 细胞迁移实验采用 Transwell 小室实验系统，小室分为上下两层，中间由人工半透膜隔开，细胞可通过细胞迁移穿过半透膜并附着在半透膜下表面，通过统计半透膜下表面细胞数量评估细胞迁移能力强弱：发生迁移细胞数量与药物组份对肿瘤细胞迁移能力抑制效果成负相关关系。Transwell 细胞迁移抑制实验方法如下：体外培养肿瘤细胞，收集对数生长期细胞，并用新鲜无血清培养基制备细胞悬液，每毫升细胞悬液中细胞数量为 2-3×10^5。接种细胞，上室 100 μL/孔细胞悬液（无血清培养基），下室 600 μL/孔完全培养液。37℃，5% CO_2 培养箱中孵育 4-5 小时后，对照组加入无血清培养基（100 μL/孔），实验组上室加入含多肽或其衍生物（N1-N54）的无血清培养基溶液（100 μL/孔），下室内多肽或其衍生物终浓度为 10 μM，继续孵育 24 小时后用甲醇固定并用结晶紫染色，显微镜下拍照并用 ImageJ 统计发生迁移细胞数。

实施例 4 抑制肿瘤细胞侵袭药效试验—Transwell 细胞侵袭实验

Transwell 细胞侵袭实验采用 Transwell 小室实验系统，小室分为上下两层，中间由人工半透膜隔开，半透膜上表面用一层人工基质胶包被模拟细胞外基质，细胞可通过细胞侵袭行为穿过基质胶和半透膜并附着在半透膜下表面，通过统计半透膜下表面细胞数量评估细胞侵袭能力强弱：发生侵袭细胞数量与药物组份对肿瘤细胞迁移能力抑制效果成负相关关系。Transwell 细胞侵袭实验方法如下：体外培养肿瘤细胞，收集对数生长期细胞，并用新鲜无血清培养基制备细胞悬液，每毫升细胞悬液中细胞数量为 2-3×10^5。接种细胞，上室 100 μL/孔细胞悬液（无血清培养基），下室 600 μL/孔完全培养液。37℃，5% CO_2 培养箱中孵育 4-5 小时后，对照组加入无血清培养基（100 μL/孔），实验组上室加入含多肽或其衍生物（N1-N54）的无血清培养基溶液（100 μL/孔），下室内多肽或其衍生物终浓度为 10 μM，继续孵育 24 小时后用甲醇固定并用结晶紫染色，显微镜下拍照并用 ImageJ 统计发生迁移细胞数。

实施例 5 肿瘤动物模型药效评估

肿瘤细胞：A549-luc 细胞来源于上海美轩生物科技有限公司，其余肿瘤细胞来源于中国科学院细胞库、美国典型培养物保藏中心（ATCC）。

实验动物：4-6 周龄雌性免疫缺陷小鼠（BALB/c-nu/nu，北京维通利华实验动物技术有限公司）。

肿瘤动物模型：**皮下异种移植瘤动物模型**，小鼠皮下接种细胞数量约为 2×10^6/200 μL，当皮下瘤块体积大于 100 mm^3 时开始进行随机分组给药实验；当肿瘤模型对照组肿瘤瘤块体积达到 2000 mm^3 或动物死亡时治疗结束，并进行动物解剖剥离肿瘤瘤块，测量瘤块重量和体积；整个实验期间每隔一天进行小鼠笼旁观察并测量体重。

转移瘤动物模型，尾静脉接种肿瘤细胞数量约为 2×10^6/100 μL，接种 1 小时后进行分组给药实验；实验持续时间 28 天，治疗结束后进行小鼠活体肺部荧光成像；整个实验期间每隔一周进行小鼠笼旁观察并检测小鼠肺部荧光强度。

给药方式：瘤内注射给药或静脉注射给药，给药剂量和频次根据具体实验设计确

定。

实验分组：模型对照组，多肽或其衍生物治疗实验组（N1-N54）;

实验动物数量：每个治疗组 5 只实验动物。

实施例 6 对人非小细胞肺癌细胞（A549）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人非小细胞肺癌（A549）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 1 为细胞迁移显微照片，表 1 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物（N1-N54）处理 48 h 后，A549 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 A549 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 1 细胞迁移率统计表

组别	**迁移率（%）（mean ± SD, *P*）**	**组别**	**迁移率（%）（mean ± SD, *P*）**	**组别**	**迁移率（%）（mean ± SD, *P*）**
对照组	75.31±8.19				
N1	18.26±8.77, **	N19	53.74±5.46,*	N37	49.45±10.09,*
N2	47.79±3.12, **	N20	55.77±5.06,*	N38	46.92±4.49,**
N3	51.86±2.15,**	N21	31.06±4.94,**	N39	56.39±6.30,*
N4	51.53±3.72,*	N22	33.59±5.62,**	N40	20.15±8.91,**
N5	46.66±5.92,**	N23	26.03±4.21,***	N41	56.03±3.75,*
N6	40.67±3.66,**	N24	31.05±3.60,**	N42	60.74±3.40,*
N7	48.64±3.10,**	N25	34.66±7.73,**	N43	57.74±5.39,*
N8	32.62±5.83,**	N26	25.04±6.01,**	N44	53.59±5.62,*
N9	56.92±4.49,**	N27	37.20±6.23,**	N45	56.03±4.21,*
N10	26.86±8.78,**	N28	17.20±6.23,***	N46	58.05±3.60,*
N11	30.79±6.74,**	N29	20.55±3.73,***	N47	54.66±4.73,*
N12	20.05±8.79,**	N30	24.57±3.19,***	N48	22.04±3.01,***
N13	19.37±9.40,**	N31	24.44±8.15,**	N49	27.20±6.23,**
N14	15.27±8.75,***	N32	28.06±8.55,**	N50	57.74±4.39,*
N15	14.98±9.09,**	N33	33.22±4.51,**	N51	53.59±5.62,*
N16	30.57±5.41,**	N34	30.51±8.12,**	N52	56.03±4.21,*
N17	18.31±9.26,**	N35	32.27±9.53,**	N53	58.05±3.60,*
N18	55.71±4.05,*	N36	55.97±3.87,**	N54	54.66±4.73,*
注：*, *P*<0.05; **, *P*<0.01; ***, *P*<0.001					

实施例 7 对人肺癌细胞（95D）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肺癌细胞（95D）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 2 为细胞迁移显微照片，表 2 为迁

移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，95D 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 95D 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 2 细胞迁移率统计表

组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）
对照组	55.31±3.19				
N1	27.31±4.35,**	N19	42.04±5.90,*	N37	27.76±6.51,**
N2	36.44±4.16,**	N20	43.15±5.46,*	N38	37.60±3.67,**
N3	30.19±5.91,**	N21	40.02±4.20,**	N39	43.19±4.82,*
N4	31.65±3.82,**	N22	38.35±5.04,**	N40	36.23±5.05,**
N5	28.27±5.00,**	N23	30.38±4.68,**	N41	32.62±3.79,**
N6	39.20±4.24,**	N24	35.78±4.79,**	N42	35.42±4.97,**
N7	35.72±3.68,**	N25	40.70±3.25,**	N43	30.38±4.71,**
N8	35.13±4.45,**	N26	37.20±5.94,**	N44	37.20±6.81,*
N9	32.27±4.69,**	N27	37.20±6.23,*	N45	33.76±5.38,**
N10	34.35±5.74,**	N28	28.08±3.38,***	N46	35.06±5.72,**
N11	28.28±3.68,***	N29	30.30±4.81,**	N47	23.86±3.61,***
N12	28.72±2.96,**	N30	33.91±3.36,**	N48	25.07±6.31,**
N13	21.21±4.41,***	N31	25.70±3.17,**	N49	29.37±3.62,**
N14	32.55±5.71,**	N32	29.47±3.42,**	N50	31.05±4.32,**
N15	24.09±6.40,**	N33	30.73±5.87,**	N51	30.04±5.08,**
N16	17.00±8.00,**	N34	13.53±4.35,***	N52	27.19±5.67,**
N17	18.31±8.26,**	N35	22.47±5.12,***	N53	21.05±6.60,**
N18	25.71±4.05,***	N36	29.70±7.24,**	N54	24.66±6.13,**
注：*, *P*<0.05; **, *P*<0.01;***, *P*<0.001					

实施例 8 对人肺鳞癌细胞（NCI-H226）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肺鳞癌细胞（NCI-H226）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 3 为细胞迁移显微照片，表 3 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，NCI-H226 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 NCI-H226 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 3 细胞迁移率统计表

组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）
对照组	65.31±3.19				
N1	12.68±9.07,***	N19	16.80±8.02,***	N37	11.33±9.49,***
N2	12.42±8.44,***	N20	19.54±6.51,***	N38	47.66±6.39 ,*
N3	16.38±6.85,***	N21	13.58±6.67,***	N39	21.82±5.54,***
N4	10.00±10.27,**	N22	18.69±5.25,***	N40	17.00±6.49,***
N5	10.65±9.94,***	N23	13.24±8.19,***	N41	15.30±8.69,***
N6	19.72±8.97,**	N24	15.74±8.70,***	N42	17.46±6.33,***
N7	18.83±4.53,***	N25	15.03±8.16,***	N43	16.38±7.71,***
N8	20.29±4.29,***	N26	18.41±7.90,***	N44	14.20±7.81,***
N9	35.47±5.20,**	N27	31.19±5.96,***	N45	23.76±5.38,***
N10	17.75±5.87,***	N28	18.08±7.38,***	N46	15.06±8.72,***
N11	21.77±5.03,***	N29	40.30±4.81,**	N47	53.86±3.61,*
N12	13.18±6.31,***	N30	13.91±7.36,***	N48	25.07±4.31,***
N13	11.29±8.97,***	N31	15.70±8.17,***	N49	38.90±5.49,**
N14	19.97±2.94,***	N32	19.47±6.42,***	N50	33.20±3.59,**
N15	35.05±3.95,**	N33	40.73±4.87,**	N51	33.16±4.43,**
N16	21.10±8.01,***	N34	36.53±4.35,**	N52	27.19±4.67,***
N17	43.38±4.83,**	N35	42.47±5.12,**	N53	41.05±4.60,**
N18	48.17±3.85,**	N36	55.70±3.24,*	N54	24.66±5.13,***
注：*, *P*<0.05; **, *P*<0.01;***, *P*<0.001					

实施例 9 肺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验（瘤内注射给药）

肺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验所采用方法如实施例 5 所述，肿瘤细胞为人肺癌细胞 A549 细胞系，给药方式为瘤内注射给药。实验分组：肿瘤模型对照组和多肽或其衍生物治疗实验组（多肽序列：N1-N12）。实验组给药剂量：N1-N12 治疗组为 5 mg/kg，每隔一天给药一次，治疗时间持续 10 天。表 4 为肿瘤瘤块重量和体积测定值统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，与模型对照组相比，N1-N12 治疗组肿瘤瘤块重量和体积均有不同程度的显著性减小，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）有效抑制了人肺癌细胞相关肿瘤的发展。

表 4 治疗结束后肿瘤瘤块重量与体积测定数据

组别	瘤重（g）（mean ± SD）	瘤体积（mm^3）（mean ± SD）	组别	瘤重（g）（mean ± SD）	瘤体积（mm^3）（mean ± SD）
模型对照组	1.45±0.15	1269.32±115.39			

N1	0.87±0.08	851.64±67.38	N7	0.81±0.16	741.86±147.66
N2	0.86±0.13	809.89±129.93	N8	0.68±0.11	783.99±69.19
N3	0.79±0.18	712.59±200.32	N9	0.72±0.09	781.14±123.66
N4	0.63±0.12	740.79±140.87	N10	0.75±0.07	705.83±182.18
N5	0.69±0.14	738.11±167.03	N11	0.73±0.08	756.57±204.03
N6	0.79±0.18	769.35±155.34	N12	0.73±0.09	726.15±144.96

实施例 10 肺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验（瘤内注射给药）

本实施例中肺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验流程、给药途径与剂量与实施例 9 一致。实验组多肽序列：N13-N32。治疗持续时间为 20 天。表 5 为肿瘤瘤块重量和体积测定值统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，与模型对照组相比，N13-N32 治疗组肿瘤瘤块重量和体积均有不同程度的显著性减小，表明本发明所述多肽或其衍生物（N13-N32）有效抑制了人肺癌细胞相关肿瘤的发展。

表 5 治疗结束后肿瘤瘤块重量与体积测定数据

组别	**瘤重（g）（mean ± SD）**	**瘤体积（mm^3）（mean ± SD）**	**组别**	**瘤重（g）（mean ± SD）**	**瘤体积（mm^3）（mean ± SD）**
模型对照组	1.92±0.13	1700.16±305.72			
N13	1.09±0.09	986.7±261.02	N23	0.83±0.29	838.73±218
N14	1.09±0.29	913.68±219.62	N24	0.83±0.29	908.37±256.24
N15	0.63±0.13	793.32±173.3	N25	0.71±0.18	958.87±351.9
N16	0.83±0.27	897.27±176.16	N26	0.8±0.22	1053.55±175.83
N17	0.76±0.26	893.18±234.75	N27	0.95±0.22	1059.51±161.22
N18	0.75±0.26	969.37±243.04	N28	0.81±0.24	1055.02±222.45
N19	0.81±0.29	963.18±185.31	N29	0.82±0.22	949±227.4
N20	0.89±0.22	1037.56±256.6	N30	0.9±0.22	913.9±204.07
N21	0.9±0.28	967.35±247.89	N31	0.71±0.16	900.88±255.61
N22	0.83±0.33	835.73±184.67	N32	0.88±0.25	984.03±184.86

实施例 11 肺癌皮下异种移植瘤动物模型药效实验（静脉注射给药）

肺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验所采用方法如实施例 5 所述，肺癌细胞为人肺癌细胞 A549 细胞系，给药方式为静脉注射给药。本实施例共涉及 3 次实验，分别评估 N1-N15、N16-N30 和 N31-N54，其中所涉及实验流程、给药方式、给药剂量与频次以及指标检测方法等 3 次实验均保持一致。实验分组为模型对照组和多肽或其衍生物治疗组（N1-N15、N16-N30、或 N31-N54）。实验组给药剂量：N1-N54 治疗组为 60 mg/kg，每隔一天给药一次，治疗持续时间为 20 天。实验结果如图 4、表 6 所示，图 4 显示了治疗结束后各组肿瘤瘤块代表性照片，表 6 为肿瘤瘤块重量和体积测定值统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，与模型对照组相比，N1-N54 治疗组肿瘤

瘤块重量和体积均有不同程度的显著性减小，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）有效抑制了人肺癌细胞相关肿瘤的发展。

表 6 治疗结束后肿瘤瘤块重量与体积测定数据

组别	瘤重（g）（mean ± SD）	瘤体积（mm^3）（mean ± SD）	组别	瘤重（g）（mean ± SD）	瘤体积（mm^3）（mean ± SD）
模型对照组	2.53±0.17	3373.26±581.44			
N1	1.01±0.2	1340.25±319.59	N28	0.91±0.21	1286.52±344.21
N2	0.6±0.28	1297.28±359.77	N29	1±0.17	1365.48±435.32
N3	0.56±0.16	1511.56±433.12	N30	1.01±0.34	1187.13±246.31
N4	0.56±0.19	1515.07±507.99	N31	0.62±0.2	1439.74±546.27
N5	0.71±0.12	1353.09±422.65	N32	0.88±0.38	1630.6±424.84
N6	0.88±0.19	1361.03±248.72	N33	0.57±0.24	1699.23±709.14
N7	0.81±0.15	1189.39±200.83	N34	1.06±0.15	1472.21±914.38
N8	1.02±0.21	1359.06±275.17	N35	0.75±0.24	1097.54±216.63
N9	0.82±0.29	1241.9±388.92	N36	0.66±0.25	1004.87±240.09
N10	0.86±0.17	1211.62±670.09	N37	0.89±0.39	915.97±199.07
N11	1.3±0.23	1419.28±615.42	N38	0.71±0.27	927.9±205.31
N12	0.85±0.19	1275.34±221.5	N39	0.98±0.3	918.84±288.77
N13	0.8±0.17	1320.14±147.22	N40	0.98±0.36	997.42±267.79
N14	0.7±0.26	1431.61±215.71	N41	0.84±0.34	1075.33±350.78
N15	0.95±0.18	1307.48±416.26	N42	0.83±0.31	1149.73±346.36
N16	1.05±0.26	1442.4±293.63	N43	0.85±0.14	1218.7±190.78
N17	0.9±0.16	1301.58±329.64	N44	1.02±0.41	1220.92±126.33
N18	1.3±0.24	1161.51±297.07	N45	0.97±0.28	1204.87±212.94
N19	0.81±0.19	1235.44±432.58	N46	0.81±0.2	1750.75±493.84
N20	0.56±0.18	1072.16±390.44	N47	0.75±0.39	1748.82±508.08
N21	0.71±0.22	1065.78±432.05	N48	0.71±0.37	1558.12±436.42
N22	0.89±0.19	1288.08±577.81	N49	0.73±0.26	1513.42±287.49
N23	0.65±0.17	993.11±298.65	N50	0.85±0.27	1463.11±472.43
N24	0.81±0.25	1099.3±512.53	N51	0.75±0.37	1412.56±599.92
N25	0.69±0.21	1169.92±572.47	N52	0.7±0.2	1425.2±555.76
N26	0.57±0.22	1163.91±457.09	N53	0.75±0.27	1549.08±539.99
N27	1.14±0.23	1402.37±405.66	N54	0.89±0.37	1381.65±396.21

实施例 12 肺癌转移瘤动物模型药效试验（静脉注射给药）

肺癌转移瘤动物模型药效试验所采用方法如实施例 5 所述，肺癌细胞为人肺癌细胞 A549-luc 细胞系，给药方式为静脉注射给药。实验分组为模型对照组和多肽或其衍生物治疗实验组（N1-N12）。给药剂量：N1-N12 治疗组为 30 mg/kg，每隔一天给药一次。图 5 显示了治疗前后后各组实验动物活体肺部荧光成像照片。与模型对照组相比，N1-N12 治疗组实验动物肺部荧光强度均有不同程度的减弱，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）可有效抑制肺部转移肿瘤的发展。

实施例 13 对人胰腺癌细胞（PANC-1）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人胰腺癌细胞（PANC-1）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 6 为细胞迁移显微照片，表 7 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，PANC-1 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 PANC-1 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 7 细胞迁移率统计表

组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）
对照组	66.65±3.37				
N1	18.89±6.68,***	N19	19.76±7.14,***	N37	18.23±6.77,***
N2	32.74±4.26,**	N20	41.56±6.68,*	N38	24.87±5.81,***
N3	29.67±5.64,***	N21	10.54±9.03,***	N39	16.29±8.00,***
N4	19.04±8.54,***	N22	11.44±8.52,***	N40	13.24±8.56,***
N5	21.63±6.16,***	N23	14.16±8.36,***	N41	14.44±7.40,***
N6	36.66±5.57,**	N24	13.99±7.57,***	N42	24.26±7.91,**
N7	37.07±7.83,**	N25	25.36±7.32,***	N43	18.87±6.90,***
N8	35.11±5.96,**	N26	26.65±6.37,***	N44	16.45±7.77,***
N9	29.12±5.84,***	N27	27.19±7.04,***	N45	45.16±5.74,**
N10	32.80±5.89,**	N28	32.25±5.40,**	N46	26.80±6.50,***
N11	28.37±7.57,**	N29	40.62±4.97,*	N47	36.05±5.62,**
N12	23.26±6.90,**	N30	16.60±5.85,***	N48	20.60±4.71,***
N13	18.28±8.38,***	N31	13.64±7.59,***	N49	17.71±7.65,***
N14	26.63±6.67,***	N32	15.49±8.35,***	N50	14.92±8.62,***
N15	14.85±5.08,***	N33	39.27±3.14,*	N51	20.85±8.10,***
N16	19.15±4.97,***	N34	28.58±3.87,***	N52	23.11±4.27,***
N17	15.47±5.29,***	N35	36.83±5.92,**	N53	15.85±7.32,***
N18	13.26±7.39,***	N36	29.81±5.39,***	N54	16.62±5.73,***

注：*, P<0.05; **, P<0.01;***, P<0.001

实施例 14 对人胰腺癌细胞（PANC-1）迁移能力抑制试验（Transwell 细胞迁移实验）

本实施例为 Transwell 细胞迁移实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人胰腺癌细胞（PANC-1）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 3 所述。图 7 为迁移至半透膜下表面的细胞在显微照片，表 8 是对迁移至半透膜下表面的细胞数量统计结果（mean ± SD, P），结果显示 N1-N54 处理组迁移至半透膜下表面细胞数显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）抑制了人胰腺癌细胞的迁移能力。

表 8 发生细胞迁移细胞数量统计表

组别	**细胞数（个）（mean ± SD, P）**	**组别**	**细胞数（个）（mean ± SD, P）**	**组别**	**细胞数（个）（mean ± SD, P）**
对照组	360±60				
N1	245±27,*	N19	238±27,*	N37	113±11,***
N2	221±35,**	N20	244±23,*	N38	116±27,***
N3	224±28,**	N21	216±12,***	N39	262±13,*
N4	268±20,*	N22	200±18,***	N40	264±12,*
N5	234±27,*	N23	200±14,***	N41	248±22,*
N6	144±12,***	N24	239±24,*	N42	236±14,**
N7	132±15,***	N25	217±31,**	N43	157±15,***
N8	133±20,***	N26	119±17,***	N44	233±28,*
N9	148±16,***	N27	143±25,***	N45	135±10,***
N10	254±20,*	N28	148±21,***	N46	145±11,***
N11	239±26,*	N29	178±31,***	N47	135±10,***
N12	246±14,*	N30	243±33,*	N48	152±18,***
N13	255±24,*	N31	217±40,**	N49	137±29,***
N14	263±16,*	N32	219±13,***	N50	230±11,**
N15	220±18,**	N33	178±14,***	N51	214±17,***
N16	230±28,*	N34	248±19,*	N52	153±16,***
N17	244±14,*	N35	151±10,***	N53	131±8,***
N18	232±24,*	N36	124±13,***	N54	128±19,***
注： *， P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001					

实施例 15 对人胰腺癌细胞（PANC-1）侵袭能力抑制试验（Transwell 细胞侵袭实验）

本实施例为 Transwell 细胞侵袭实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人胰腺癌细胞（PANC-1）侵袭能力抑制效果，实验方法如实施例 4 所述。图 8 为迁移至半透膜下表面的细胞在显微照片，表 9 是对迁移至半透膜下表面的细胞数量统计结果（mean ± SD, P），结果显示 N1-N54 处理组迁移至半透膜下表面细胞数显著少于对照

组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）抑制了人胰腺癌细胞的侵袭能力。

表 9 发生细胞侵袭细胞数量统计表

组别	细胞数（个）（mean ± SD, *P*）	组别	细胞数（个）（mean ± SD, *P*）	组别	细胞数（个）（mean ± SD, *P*）
对照组	727±68				
N1	83±26,****	N19	213±20,****	N37	359±34,***
N2	93±19,****	N20	273±12,****	N38	262±21,****
N3	111±10,****	N21	269±28,****	N39	278±16,****
N4	37±4,****	N22	220±65,****	N40	273±21,****
N5	109±7,****	N23	196±26,****	N41	288±38,****
N6	110±5,****	N24	226±18,****	N42	399±21,***
N7	70±17,****	N25	247±17,****	N43	251±10,****
N8	65±16,****	N26	231±18,****	N44	349±30,***
N9	93±6,****	N27	242±35,****	N45	358±23,***
N10	159±12,****	N28	247±15, ****	N46	125±17,****
N11	66±14,****	N29	213±17,****	N47	133±29,****
N12	180±17,****	N30	237±15,****	N48	149±12,****
N13	161±19,****	N31	365±57,***	N49	141±7,****
N14	157±37,****	N32	251±10,****	N50	310±30,***
N15	104±9,****	N33	345±27,***	N51	282±28,****
N16	128±25,****	N34	346±30,***	N52	237±27,****
N17	95±6,****	N35	358±23,***	N53	228±25,****
N18	118±14,****	N36	384±22,***	N54	231±26,****
注： ***, *P*<0.001; ****, *P*<0.0001					

实施例 16 胰腺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验（瘤内注射给药）

胰腺癌皮下异种移植瘤动物模型药效试验所采用方法如实施例 5 所述，胰腺癌细胞为人胰腺癌细胞 PANC-1 细胞系，给药方式为瘤内注射给药。实验分组分为模型对照组和多肽或其衍生物治疗组（N1-N12）。N1-N12 治疗组给药剂量为 5 mg/kg，每隔一天给药一次，瘤内注射给药。治疗持续时间为 25 天。实验结果如图 9、表 10 所示，图 9 显示了治疗结束后各组肿瘤瘤块照片，表 10 为肿瘤瘤块重量和体积测定值统计结果，结果显示，N1-N12 治疗组肿瘤瘤块重量和体积均比模型对照组组小，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）有效抑制了人胰腺癌细胞相关肿瘤的发展。

表 10 治疗结束后肿瘤瘤块重量与体积测定数据

组别	瘤重（g）	瘤体积（mm^3）	组别	瘤重（g）	瘤体积（mm^3）

	（mean ± SD）	（mean ± SD）		（mean ± SD）	（mean ± SD）
模型对照组	1.2±0.11	1431.72±174.33			
N1	0.52±0.13	704.1±152.43	N7	0.74±0.09	671.47±150.71
N2	0.72±0.12	761.37±150.52	N8	0.59±0.11	769.54±160.54
N3	0.6±0.1	695.11±111.9	N9	0.5±0.09	765.6±105.04
N4	0.62±0.07	673.03±157.33	N10	0.57±0.11	667.99±188.73
N5	0.54±0.1	696.52±127.05	N11	0.62±0.12	785.02±147.38
N6	0.61±0.07	538.26±121.04	N12	0.71±0.09	863.2±129.61

实施例 17 对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）迁移能力抑制试验（Transwell 细胞迁移实验）

本实施例为 Transwell 细胞迁移实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 3 所述。图 10 为迁移至半透膜下表面的细胞在显微照片，表 11 是对迁移至半透膜下表面的细胞数量统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示 N1-N54 处理组迁移至半透膜下表面细胞数显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）抑制了人肝癌细胞的迁移能力。

表 11 发生细胞迁移细胞数量统计表

组别	细胞数（个）（mean ± SD, *P*）	组别	细胞数（个）（mean ± SD, *P*）	组别	细胞数（个）（mean ± SD, *P*）
对照组 1	782±108	对照组 2	768±86		
N1	87±10 ,****	N19	82±6 ,****	N37	84±7 ,****
N2	104±10 ,****	N20	299±35 ,****	N38	380±32 ,***
N3	112±10 ,****	N21	34±7 ,****	N39	261±25 ,****
N4	357±21 ,***	N22	42±17 ,****	N40	290±33 ,****
N5	167±12 ,****	N23	276±24 ,****	N41	280±24 ,****
N6	157±13 ,****	N24	265±24 ,****	N42	106±17 ,****
N7	127±16 ,****	N25	58±15 ,****	N43	157±29 ,****
N8	139±13 ,****	N26	68±19 ,****	N44	165±18 ,****
N9	174±15 ,****	N27	469±56 ,**	N45	162±15 ,****
N10	54±5 ,****	N28	51±25 ,****	N46	172±15 ,****
N11	80±6 ,****	N29	254±14 ,****	N47	179±17 ,****
N12	405±49 ,**	N30	156±22 ,****	N48	374±22 ,***
N13	25±12 ,****	N31	90±6 ,****	N49	137±11 ,****
N14	61±14 ,****	N32	201±13 ,****	N50	192±16 ,****
N15	131±10 ,****	N33	354±31 ,***	N51	306±46 ,***

N16	74±18 ,****	N34	260±32 ,****	N52	318±37 ,***
N17	50±5 ,****	N35	315±36 ,***	N53	265±32 ,****
N18	96±28 ,****	N36	169±22 ,****	N54	345±3 ,****
注： **, P<0.01;***, P<0.001; ****, P<0.0001N1-N23 vs 对照组 1; N24-N54 vs 对照组 2.					

实施例 18 对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）侵袭能力抑制试验（Transwell 细胞侵袭实验）

本实施例为 Transwell 细胞侵袭实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）侵袭能力抑制效果，实验方法如实施例 4 所述。图 11 为迁移至半透膜下表面的细胞在显微照片，表 12 是对迁移至半透膜下表面的细胞数量统计结果（mean ± SD, P），结果显示 N1-N54 处理组迁移至半透膜下表面细胞数显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N54）抑制了人肝癌细胞的侵袭能力。

表 12 发生细胞侵袭细胞数量统计表

组别	**细胞数（个）（mean ± SD, P）**	**组别**	**细胞数（个）（mean ± SD, P）**	**组别**	**细胞数（个）（mean ± SD, P）**
对照组	767±91				
N1	343±38,***	N19	348±40,***	N37	233±13,****
N2	432±47,**	N20	242±22,****	N38	249±42,****
N3	372±62,***	N21	356±60,***	N39	88±25,****
N4	411±75,**	N22	430±51,**	N40	123±26,****
N5	353±52,***	N23	456±45,**	N41	58±12,****
N6	145±29,****	N24	332±30,***	N42	149±29,****
N7	463±52,**	N25	411±30,***	N43	107±16,****
N8	277±38,****	N26	371±27,***	N44	30±5,****
N9	288±35,***	N27	369±52,***	N45	155±10,****
N10	460±43,**	N28	214±31,****	N46	102±23,****
N11	398±36,***	N29	322±56,***	N47	85±16,****
N12	308±42,***	N30	85±20,****	N48	109±10,****
N13	258±32,****	N31	269±17,****	N49	335±32,***
N14	329±54,***	N32	252±7,****	N50	243±46,****
N15	418±36,**	N33	197±32,****	N51	248±39,****
N16	398±43,***	N34	187±38,****	N52	132±29,****
N17	165±28,****	N35	338±43,***	N53	143±19,****
N18	262±21,****	N36	413±63,**	N54	151±28,****
注： **, P<0.01; ***, P<0.001; ****, P<0.0001					

实施例 19 对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）中纤粘蛋白表达抑制试验

体外培养 SK-HEP-1 细胞，收集对数生长期细胞，将细胞均匀铺于 24 孔板，保证每孔细胞数量为 1-3×10^5，于细胞培养箱中培养 4-5 h，对照组加入 PBS 作为对照，实验组上室加入含多肽或其衍生物（N1-N12）的 PBS 溶液，小室内多肽或其衍生物终浓度为 10 μM，继续孵育 24 小时后收集细胞并提取总蛋白，ELISA 法检测总蛋白中纤粘蛋白含量。结果如图 12、表 13 所示，N1-N12 处理组纤粘蛋白显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）抑制了人肝癌细胞中纤粘蛋白表达。

表 13

组别	相对蛋白水平（mean ± SD, *P*）	组别	相对蛋白水平（mean ± SD, *P*）	组别	相对蛋白水平（mean ± SD, *P*）
对照组	1.62±0.09				
N1	1.3±0.02,**	N5	1.3±0.11,*	N9	1.33±0.09,*
N2	1.23±0.08,**	N6	1.33±0.04,**	N10	1.3±0.05,**
N3	1.26±0.09,**	N7	1.36±0.04,*	N11	1.39±0.01,*
N4	1.23±0.11,**	N8	1.33±0.11,*	N12	1.23±0.07,**
注：*, *P*<0.05; **, *P*<0.01					

实施例 20 对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）中 N-钙黏蛋白表达抑制试验

多肽或其衍生物（N1-N12）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）中 N-钙黏蛋白表达抑制实验方法如实施例 19 所述。结果如图 13、表 14 所示，N1-N12 处理组 N-钙黏蛋白显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）抑制了人肝癌细胞中 N-钙黏蛋白表达。

表 14

组别	相对蛋白水平（mean ± SD, *P*）	组别	相对蛋白水平（mean ± SD, *P*）	组别	相对蛋白水平（mean ± SD, *P*）
对照组	1.12±0.03				
N1	0.83±0.04,***	N5	0.83±0.04,***	N9	0.73±0.04,***
N2	0.93±0.04,**	N6	0.83±0.04, ***	N10	0.69±0.03,****
N3	0.87±0.09,*	N7	0.73±0.06,***	N11	0.73±0.04,***
N4	0.93±0.04,**	N8	0.7±0.06,***	N12	0.58±0.03,***
注：*, *P*<0.05; **, *P*<0.01;***, *P*<0.001;****, *P*<0.0001					

实施例 21 对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）中波形蛋白表达抑制试验

多肽或其衍生物（N1-N12）对人肝腹水腺癌细胞（SK-HEP-1）中波形蛋白表达抑制实验方法如实施例 19 所述。结果如图 14、表 15 所示，N1-N12 处理组波形蛋白显著少于对照组，表明本发明所述多肽或其衍生物（N1-N12）抑制了人肝癌细胞中波形蛋白表达。

表 15

组别	相对蛋白水平（mean ± SD, *P*）	组别	相对蛋白水平（mean ± SD, *P*）	组别	相对蛋白水平（mean ± SD, *P*）
对照组	1.2±0.01				
N1	0.97±0.03, ***	N5	0.87±0.03, ****	N9	1.03±0.05, **
N2	0.91±0.03, ****	N6	0.81±0.03, ****	N10	0.88±0.06, ***
N3	0.96±0.05, **	N7	1±0.03, ***	N11	0.94±0.05, ***
N4	0.95±0.03, ***	N8	0.81±0.03, ****	N12	0.71±0.03, ****
注：**, *P*<0.01;***, *P*<0.001;****, *P*<0.0001					

实施例 22 对人肝癌细胞（HepG2）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人肝癌细胞（HepG2）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 15 为细胞迁移显微照片，表 16 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，HepG2 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 HepG2 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 16 细胞迁移率统计表

组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）
对照组	71.01±6.63				
N1	17.42±7.70,***	N19	12.10±6.15,***	N37	13.81±6.14,***
N2	13.05±6.50,***	N20	14.22±6.12,***	N38	12.81±7.32,***
N3	17.57±6.98,***	N21	15.00±7.29,***	N39	15.73±6.79,***
N4	25.37±6.11,***	N22	18.61±8.35,***	N40	32.55±4.09,**
N5	19.84±5.04,***	N23	17.22±7.12,***	N41	25.59±6.26,***
N6	16.65±6.70,***	N24	16.38±6.48,***	N42	30.92±4.57,**
N7	11.54±9.00,***	N25	14.22±7.10,***	N43	26.54±7.89,**
N8	18.65±6.88,***	N26	16.86±7.90,***	N44	45.17±3.61,**
N9	35.11±5.16,**	N27	39.99±3.19,**	N45	52.98±4.08,*
N10	39.45±5.00,**	N28	12.25±8.40,***	N46	23.81±9.84,**
N11	53.36±5.49,*	N29	10.62±8.97,***	N47	54.67±7.02,*
N12	48.01±5.38,**	N30	16.60±7.85,***	N48	25.43±5.00,***
N13	45.91±4.70,**	N31	13.64±7.59,***	N49	16.45±5.88,***
N14	48.61±4.63,**	N32	15.49±8.35,***	N50	16.03±4.37,***
N15	53.20±5.58,*	N33	19.27±8.14,***	N51	28.61±5.89,**
N16	43.25±5.18,**	N34	18.58±7.87,***	N52	15.39±7.19,***

N17	43.42±3.16,**	N35	16.83±7.92,***	N53	35.85±4.32,**
N18	48.73±3.52,**	N36	36.81±5.39,**	N54	46.62±3.73,**
注： *, P<0.05; **, P<0.01;***, P<0.001					

实施例 23 对人乳腺癌细胞（MDA-MB-453）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人乳腺癌细胞（MDA-MB-453）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 16 为细胞迁移显微照片，表 17 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，MDA-MB-453 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 MDA-MB-453 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 17 细胞迁移率统计表

组别	**迁移率（%）（mean ± SD, P）**	**组别**	**迁移率（%）（mean ± SD, P）**	**组别**	**迁移率（%）（mean ± SD, P）**
对照组	32.42±2.04				
N1	13.05±2.05,**	N19	25.49±2.69,*	N37	15.13±3.55,**
N2	12.96±3.13,**	N20	7.67±1.35,**	N38	12.46±2.5,***
N3	13.04±3.5,**	N21	13.59±2.07,**	N39	11.02±6.8,**
N4	15.74±4.83,*	N22	8.54±1.57,**	N40	13.88±6.51,**
N5	14.74±3.23,**	N23	18.2±3.53,**	N41	11.5±3.23,***
N6	13.01±3.14,**	N24	15.84±4.44,*	N42	14.12±9.89,**
N7	12.64±2.73,**	N25	21.05±2.53,*	N43	10.38±6.04,**
N8	9.44±2.09,***	N26	6.19±1.42,***	N44	15.78±3.27,**
N9	7.19±2.38,***	N27	21.24±3.73,*	N45	5.53±2.87,***
N10	6.9±1.65,***	N28	11.32±5.61,**	N46	5.99±2.1,***
N11	4.49±1.6,***	N29	13.73±3.29,**	N47	14.66±2.51,***
N12	6.32±1.78,***	N30	15.77±2.33,***	N48	12.62±3.25,**
N13	9.28±2.43,***	N31	10.49±3.13,***	N49	15.79±4.48,**
N14	7.58±2.34,***	N32	17.55±3.48,**	N50	18.35±3.91,**
N15	8.95±2.93,***	N33	10.76±4.13,***	N51	10.6±2.33,***
N16	8.11±1.71,***	N34	9.57±3.68,***	N52	13.87±3.13,***
N17	4.51±1.96,***	N35	8.46±2.77,***	N53	8.02±3.35,***
N18	9.97±2.44,***	N36	9.48±3.71,***	N54	3.19±1.08,***
注： *, P<0.05; **, P<0.01;***, P<0.001					

实施例 24 对人乳腺癌细胞（MDA-MB-231）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人乳腺癌细胞（MDA-MB-231）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 17 为细胞迁移

显微照片，表 18 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，MDA-MB-231 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物对 MDA-MB-231 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 18 细胞迁移率统计表

组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）
对照组	36.19±5.15				
N1	21.83±3.73,*	N19	15.23±3.54,*	N37	20.43±3.23,*
N2	20.92±2.16,*	N20	20.18±3.38,*	N38	18.99±3.25,*
N3	21.98±2.74,*	N21	19.95±5.47,*	N39	19.08±3.17,*
N4	21.44±2.59,*	N22	16.94±3.17,*	N40	21.12±4.15,*
N5	22.13±3.22,*	N23	14.39±2.33,**	N41	14.75±4.28,**
N6	17.42±4.98,*	N24	20.97±3.37,*	N42	17.91±3.66,**
N7	21.04±2.46,*	N25	12.93±4.38,**	N43	12.19±5.70,**
N8	19.02±3.53,*	N26	19.02±5.06,*	N44	11.26±3.34,***
N9	15.96±3.92,*	N27	9.62±3.01,***	N45	13.02±4.54,**
N10	13.6±4.62,**	N28	9.36±1.8,**	N46	14.83±4.35,**
N11	10.68±5.72,**	N29	18±4.47,*	N47	21.82±4.11,*
N12	15.41±3.55,**	N30	9.02±2.02,***	N48	13.06±3.2,**
N13	7.45±2.6,***	N31	18.7±3.05,*	N49	13.41±3.12,**
N14	14.59±5.36,*	N32	13.33±3.83,**	N50	14.46±5.73,**
N15	13.03±5.72,**	N33	22.68±3.02,*	N51	14.5±2.68,**
N16	14.99±6.11,*	N34	17.34±4.82,*	N52	13.19±4.84,**
N17	12.04±4.13,**	N35	18.12±5.23,*	N53	18.05±6.08,*
N18	18.64±6.98,*	N36	15.93±4.61,*	N54	13.37±5.89,**
注：*, *P*<0.05; **, *P*<0.01;***, *P*<0.001					

实施例 25 对人乳腺癌细胞（MCF-7）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人乳腺癌细胞（MCF-7）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 18 为细胞迁移显微照片，表 19 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，MCF-7 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 MCF-7 细迁移能力均有抑制作用。

表 19 细胞迁移率统计表

组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）

对照组	30.97±1.79				
N1	11.18±2.89,**	N19	11.84±3.95,**	N37	8.64±3.76,**
N2	12.32±2.26,**	N20	13.73±4.97,**	N38	6.93±2.24,**
N3	10.39±2.07,**	N21	10.43±2.18,**	N39	7.74±2.46,**
N4	13.6±2.28,**	N22	8.79±3.01,**	N40	4.36±1.35,***
N5	14.50±2.66,**	N23	10.20±2.86,**	N41	5.19±2.94,***
N6	15.69±4.09,*	N24	9.43±1.12,**	N42	10.04±2.28,**
N7	12.59±3.23,**	N25	9.16±2.51,**	N43	7.83±3.42,**
N8	11.56±2.35,**	N26	10.43±3.34,**	N44	5.89±1.97,***
N9	5.28±2.11,***	N27	8.40±2.44,**	N45	17.06±2.87,*
N10	9.55±2.72,**	N28	14.83±5.38,*	N46	15.66±2.57,*
N11	9.34±3.74,**	N29	19.15±3.04,*	N47	18.41±2.35,*
N12	11.65±3.32,**	N30	14.34±4.06,*	N48	15.62±2.70,*
N13	13.79±2.05,**	N31	9.27±2.23,**	N49	7.29±3.80,**
N14	7.05±1.40,***	N32	14.18±2.82,**	N50	6.83±4.55,**
N15	11.57±2.10,**	N33	18.97±2.44,*	N51	8.56±4.18,**
N16	9.81±3.29,**	N34	15.23±4.39,*	N52	7.23±2.41,**
N17	11.47±4.24,**	N35	17.38±2.55,*	N53	9.45±2.39,**
N18	10.40±2.72,**	N36	13.78±2.62,**	N54	16.52±2.93,*
注： *, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001					

实施例 26 对人黑色素瘤细胞（A375）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人黑色素瘤细胞（A375）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 19 为细胞迁移显微照片，表 20 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，A375 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 A375 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 20 细胞迁移率统计表

组别	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）	**组别**	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）	**组别**	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）
对照组	44.03±6.21				
N1	8.49±2.99,***	N19	12.93±3.34,***	N37	14.48±2.51,***
N2	6.52±1.25,***	N20	14.61±3.12,***	N38	15.57±3.65,***
N3	4.91±1.19,***	N21	8.29±3.50,***	N39	9.21±3.20,***
N4	5.06±2.32,***	N22	5.12±3.69,***	N40	6.47±1.39,***
N5	9.82±3.84,***	N23	11.13±2.15,***	N41	10.01±2.07,***

N6	11.22±1.65,***	N24	15.79±4.16,**	N42	8.92±2.25,***
N7	8.95±1.27,***	N25	17.67±2.41,**	N43	11.22±1.74,***
N8	4.74±1.84,***	N26	12.23±2.48,***	N44	6.07±1.59,***
N9	8.96±2.46,***	N27	12.52±3.78,***	N45	18.79±2.28,**
N10	6.71±2.07,***	N28	10.80±2.66,***	N46	9.15±2.10,***
N11	11.54±2.23,***	N29	14.01±4.22,***	N47	8.82±1.49,***
N12	12.46±3.75,***	N30	6.96±2.18,***	N48	9.09±2.23,***
N13	16.28±4.19,**	N31	12.5±2.29,***	N49	6.51±1.53,***
N14	6.28±1.12,***	N32	18.22±3.95,**	N50	15.97±2.33,**
N15	10.62±2.53,***	N33	9.98±3.11,***	N51	17.96±3.20,**
N16	11.28±3.14,***	N34	15.11±2.01,***	N52	19.57±2.21,**
N17	14.35±2.52,***	N35	19.51±2.28,**	N53	18.83±4.71,**
N18	12.67±1.33,***	N36	16.96±2.18,**	N54	16.91±3.21,**
注： P<0.01; ***, P<0.001					

实施例 27 对人口腔表皮样癌细胞（KB）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人口腔表皮样癌细胞（KB）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 20 为细胞迁移显微照片，表 21 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，多肽或其衍生物处理 48 h 后，KB 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 KB 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 21 细胞迁移率统计表

组别	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）	**组别**	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）	**组别**	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）
对照组	54.03±4.21				
N1	7.49±2.99,***	N19	8.14±2.21,***	N37	24.48±2.51,*
N2	6.82±3.25,***	N20	6.92±3.28,***	N38	15.57±3.65,*
N3	9.95±2.19,***	N21	9.87±2.84,***	N39	9.21±4.20,***
N4	5.96±2.32,***	N22	10.02±2.35,***	N40	6.47±4.39,***
N5	9.62±3.84,***	N23	10.57±1.7,***	N41	20.01±2.07,**
N6	15.79±3.16,**	N24	24.03±4.21,*	N42	8.92±2.65,***
N7	11.11±3.86,***	N25	18.32±2.63,**	N43	11.22±1.74,***
N8	11.55±1.62,***	N26	23.71±4.86,*	N44	6.07±1.59,***
N9	9.27±2.63,***	N27	12.53±3.88,**	N45	8.79±2.28,***
N10	13.87±3.48,***	N28	11.24±3.52,***	N46	9.15±1.60,***

N11	8.29±1.96,***	N29	8.07±1.79,***	N47	8.82±1.89,***
N12	11.53±2.78,***	N30	8.75±3.35,***	N48	9.09±4.23,***
N13	14.53±3.53,**	N31	7.17±1.67,***	N49	16.51±3.93,**
N14	11.22±2.66,***	N32	11.70±2.95,***	N50	15.97±2.93,**
N15	40.62±3.53,*	N33	6.01±1.62,***	N51	37.96±3.60,*
N16	18.28±3.45,**	N34	12.88±1.71,***	N52	9.57±1.61,***
N17	14.35±2.52,**	N35	6.07±2.30,***	N53	8.83±1.75,***
N18	12.67±2.33,***	N36	16.25±3.04,**	N54	6.91±3.44,***
注： *, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001					

实施例 28 对人咽鳞癌细胞（Fadu）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人咽鳞癌细胞（Fadu）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 21 为细胞迁移显微照片，表 22 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，Fadu 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 Fadu 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 22 细胞迁移率统计表

组别	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）	**组别**	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）	**组别**	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）
对照组	28.76±4.08				
N1	5.68±2.86,***	N19	17.23±3.53,*	N37	15.89±3.88,*
N2	10.71±2.30,**	N20	15.21±4.90,*	N38	18.18±3.61,*
N3	12.97±3.58,**	N21	16.87±6.77,*	N39	18.48±5.74,*
N4	14.32±2.67,**	N22	15.11±4.99,*	N40	10.25±2.76,**
N5	9.07±2.08,***	N23	16.93±3.67,*	N41	12.00±4.73,**
N6	11.34±2.04,**	N24	14.07±5.12,*	N42	18.63±2.79,*
N7	13.12±3.56,**	N25	9.89±2.47,***	N43	10.04±2.50,**
N8	9.54±5.75,**	N26	13.70±4.57,**	N44	13.19±3.83,**
N9	16.82±3.57,*	N27	15.99±3.96,*	N45	9.34±2.86,***
N10	15.93±4.73,*	N28	15.23±3.59,*	N46	7.58±3.07,***
N11	19±5.37,*	N29	12.27±2.23,**	N47	10.27±4.61,***
N12	17.72±2.53,**	N30	13.85±3.59,**	N48	8.78±4.34,***
N13	9.38±2.46,***	N31	12.13±5.10,**	N49	6.29±2.62,***
N14	12.90±2.47,**	N32	14.63±4.96,*	N50	5.44±1.44,***
N15	12.45±4.28,**	N33	10.28±2.06,**	N51	8.71±1.79,***
N16	5.51±1.32,***	N34	7.38±2.85,***	N52	7.76±2.08,***

N17	8.78±2.34,***	N35	8.71±1.79,***	N53	13.8±3.05,**
N18	6.29±2.62,***	N36	18.76±4.08,*	N54	15.88±5.38,*
注： *, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001					

实施例 29 对人结肠癌细胞（HCT-116）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人结肠癌细胞（HCT-116）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 22 为细胞迁移显微照片，表 23 为迁移率统计结果（mean ± SD, P），结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，HCT-116 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物对 HCT-116 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 23 细胞迁移率统计表

组别	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）	**组别**	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）	**组别**	**迁移率（%）**（mean ± SD, P）
对照组	47.78±6.07				
N1	10.27±3.64,***	N19	9.80±2.62,***	N37	4.99±1.68,***
N2	23.42±6.12,**	N20	8.17±1.07,***	N38	5.97±2.44,***
N3	22.06±4.59,**	N21	12.85±3.12,***	N39	4.29±2.88,***
N4	25.48±2.79,**	N22	7.78±3.07,***	N40	2.19±1.45,***
N5	12.75±2.82,***	N23	13.08±2.64,***	N41	5.78±2.76,***
N6	18.13±2.68,**	N24	12.14±2.49,***	N42	6.75±2.33,***
N7	20.09±2.41,**	N25	18.70±2.39,**	N43	4.56±1.52,***
N8	16.96±3.87,**	N26	9.81±2.92,***	N44	8.80±4.89,***
N9	25.96±3.84,**	N27	24.14±3.00,**	N45	28.34±2.87,**
N10	8.70±2.39,***	N28	9.19±3.22,***	N46	19.78±3.78,**
N11	13.81±2.92,***	N29	8.24±2.32,***	N47	18.92±2.11,**
N12	8.14±3.00,***	N30	12.41±2.99,***	N48	18.03±4.62,**
N13	12.19±3.22,***	N31	7.39±2.06,***	N49	18.84±2.99,**
N14	12.24±2.32,***	N32	8.17±1.07,***	N50	17.04±4.96,**
N15	10.41±2.99,***	N33	12.85±3.12,***	N51	16.11±3.20,**
N16	9.39±2.06,***	N34	17.96±3.84,**	N52	18.71±3.59,**
N17	23.09±2.41,***	N35	9.08±2.64,***	N53	14.42±3.21,***
N18	16.96±4.87,**	N36	22.14±2.49,**	N54	26.50±3.99,**
注： **, P<0.01; ***, P<0.001					

实施例 30 对人甲状腺癌细胞（FRO）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人甲状腺癌细胞

（FRO）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 23 为细胞迁移显微照片，表 24 为迁移率统计结果（mean ± SD, *P*），结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，FRO 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 FRO 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 24 细胞迁移率统计表

组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）
对照组	60.34±8.32				
N1	7.45±2.78,***	N19	25.59±4.08,**	N37	36.47±5.69,*
N2	22.88±5.43,**	N20	24.03±8.61,*	N38	19.23±7.52,**
N3	3.51±1.34,***	N21	30.45±4.94,*	N39	36.51±4.36,*
N4	11.34±2.73,***	N22	42.34±4.98,*	N40	39.96±4.95,*
N5	4.71±1.90,***	N23	34.39±4.10,*	N41	40.10±2.73,*
N6	3.24±1.80,***	N24	16.54±3.19,**	N42	25.71±2.79,**
N7	5.73±2.04,***	N25	14.31±2.47,***	N43	19.78±4.60,**
N8	7.28±2.89,***	N26	11.21±4.01,***	N44	34.28±3.45,*
N9	20.51±5.04,**	N27	13.42±3.35,***	N45	24.22±6.27,**
N10	14.14±3.64,***	N28	8.77±2.85,***	N46	9.06±2.42,***
N11	10.09±4.33,***	N29	5.12±2.67,***	N47	16.47±3.83,**
N12	7.67±3.29,***	N30	5.16±1.67,***	N48	13.78±2.61,***
N13	11.99±2.39,***	N31	9.77±1.96,***	N49	15.77±2.99,**
N14	14.09±2.47,***	N32	7.83±2.06,***	N50	11.80±4.15,***
N15	8.84±2.27,***	N33	7.03±2.02,***	N51	17.93±5.55,**
N16	11.72±4.41,***	N34	8.74±3.40,***	N52	10.86±3.90,***
N17	11.38±2.27,***	N35	8.04±2.90,***	N53	20.32±4.58,**
N18	22.96±5.05	N36	18.16±2.04	N54	8.26±3.47
注： *, *P*<0.05; **, *P*<0.01; ***, *P*<0.001					

实施例 31 对人前列腺癌细胞（22RV1）迁移能力抑制试验（细胞划痕实验）

本实施例为细胞划痕实验评估多肽或其衍生物（N1-N54）对人前列腺癌细胞（22RV1）迁移能力抑制效果，实验方法如实施例 2 所述。图 24 为细胞迁移显微照片，表 25 为迁移率统计结果，结果显示，10 μM 多肽或其衍生物处理 48 h 后，22RV1 的迁移率相比对照组均有不同程度的显著性降低，表明多肽或其衍生物（N1-N54）对 22RV1 细胞迁移能力均有抑制作用。

表 25 细胞迁移率统计表

组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）	组别	迁移率（%）（mean ± SD, *P*）
对照组	25.41±5.01				
N1	7.26±3.36,**	N19	5.36±1.6,**	N37	4.86±1.91,**
N2	6.48±2.97,**	N20	4.88±1.48,**	N38	7.73±1.58,**
N3	6.15±4.65,**	N21	12.79±3.06,*	N39	4.21±2.81,**
N4	13.44±3.24,*	N22	6.10±2.72,**	N40	6.65±2.54,**
N5	10.37±3.53,*	N23	5.7±3.23,**	N41	7.83±1.84,**
N6	12.31±2.85,*	N24	8.44±1.63,**	N42	5.89±1.02,**
N7	6.54±2.24,**	N25	13.02±2.27,*	N43	6.57±1.35,**
N8	8.75±1.98,**	N26	11.42±2.08,*	N44	15.11±2.39,*
N9	14.84±2.96,*	N27	14.76±2.79,*	N45	11.63±2.82,*
N10	13.39±2.3,*	N28	15.63±2.59,*	N46	10.10±2.08,*
N11	9.43±2.23,**	N29	9.99±3.89,*	N47	5.92±2.53,**
N12	6.61±2.83,**	N30	10.82±2.55,*	N48	5.61±3.14,**
N13	9.77±3.66,*	N31	12.40±2.24,*	N49	6.18±1.89,**
N14	14.06±2.37,*	N32	8.68±1.66,**	N50	6.20±3.31,**
N15	8.36±2.03,**	N33	10.03±2.15,*	N51	5.23±2.42,**
N16	9.75±2.14,**	N34	5.00±2.29,**	N52	5.43±1.97,**
N17	4.61±1.64,**	N35	7.13±2.23,**	N53	10.75±3.22,*
N18	6.75±3.22,**	N36	13.68±2.56,*	N54	12.94±2.70,*
注： *, *P*<0.05; **, *P*<0.01					

实施例 32 小鼠 14 天连续给药急性毒性实验

实验动物为 C57BL/6J 小鼠（成都达硕实验动物有限公司，雄性，4-5 周龄）。实验分组：对照组，生理盐水；实验组，多肽或其衍生物（N1-N54）给药组；每组 3 只实验动物。对照组尾静脉注射生理盐水，100 μL/次/天；多肽或其衍生物（N1-N54）尾静脉给药剂量为 200 mg/kg/day，体积为 100 μL；连续给药 13 天。第 14 天处死实验动物，并剥离大脑、心脏、肝、肺、肾、脾等器官组织用于病理切片分析（HE 染色）。实验结果如图 25-30 所示。图 25 为脑组织病理照片，N1-N54 各给药组与对照组的染色结果没有明显差别，小鼠大脑组织中海马区神经元排列规则，且大脑内无出血点、炎性细胞浸润及疏松水肿等病理现象。图 26 为心脏组织病理照片，N1-N54 各给药组与对照组的染色结果没有明显差别，心肌细胞无水肿、肥大现象，也无炎症细胞浸润、毛细血管及纤维细胞增生等病理现象。图 27 为肝组织病理照片，N1-N54 各给药组与对照组的染色结果没有明显差别，肝细胞以中央静脉为中心呈单行放射状排

列，肝细胞无空泡样变性、坏死，也无炎性细胞浸润及边缘纤维化等病理现象。图 28 为肺组织病理照片，各给药组与对照组的染色结果没有明显差别，即肺泡腔呈空泡状薄壁结构，无肺泡壁增厚、炎性细胞浸润等病理现象。图 29 为肾组织病理照片，各给药组与对照组的染色结果没有明显差别，肾小球结构清晰，无颗粒样变性、炎性细胞浸润、毛细血管充血等病理现象。图 30 为脾脏组织病理照片， 各给药组与对照组的染色结果没有明显差别，即脾脏结构完整，脾血窦被脾索包围，相互连接成网，无动脉周围淋巴鞘增厚、脾小体数量增加等病理现象。综上所述，高剂量急性毒性结果表明静脉注射 N1-N54 任一成分均不会对小鼠产生相关的器官毒性。

实施例33 对小鼠凝血功能影响实验

以 C57BL/6J 小鼠为实验对象（购自成都达硕实验动物有限公司，雄性，体重 16-17 g），通过尾静脉注射无菌生理盐水或多肽药物，每天注射一次，直至第 24天。对照组小鼠注射无菌生理盐水，给药组（N1-N12）小鼠注射多肽药物（200 mg/kg）；每组3只实验动物。第25天进行摘眼球取血（50 μL），用ACT检测卡通过雅培i-STAT血气分析仪检测小鼠凝血功能。结果见表26，N1至N12各给药组与对照组的活化凝血时间（ACT）没有明显变化，表明多肽药物对小鼠凝血功能无影响。

表26 活化凝血时间（s）

组别	活化凝血时间（s）（mean±SD）	组别	活化凝血时间（s）（mean±SD）	组别	活化凝血时间（s）（mean±SD）
对照组	73.50±7.15				
N1	73.64±9.31	N5	72.91±8.04	N9	72.09±8.07
N2	74.82±9.62	N6	74.09±8.51	N10	73.27±7.36
N3	72.55±8.27	N7	73.27±8.43	N11	75.18±7.99
N4	73.64±8.12	N8	74±8.92	N12	75.55±7.61

实施例34 药物免疫原性检测

以 C57BL/6J 小鼠为实验对象（购自成都达硕实验动物有限公司，雄性，体重 16-17g），通过尾静脉注射无菌生理盐水或多肽药物，每天注射一次，直至第 13天或 24天。对照组小鼠注射无菌生理盐水，给药组（N1-N12）小鼠注射多肽药物（200 mg/kg）。分别于第14天和第25天进行摘眼球取血（各800 μL），用离心机分离血清，通过ELISA法检测免疫球蛋白G（IgG）的变化。结果见表27，N1至N12各给药组分别于给药后第14天和第25天与对照组相比，IgG含量无明显变化，表明多肽药物在体内几乎不产生免疫原性。

表27 免疫球蛋白G（IgG）含量（μg/mL）

组别	第14天IgG含量（ g/mL）（mean±SD）	第25天IgG含量（ g/mL）（mean±SD）	组别	第14天IgG含量（ g/mL）（mean±SD）	第25天IgG含量（ g/mL）（mean±SD）
对照组	254.99±52.82	360.81±83.84			

N1	258.98±37.06	354.74±54.77	N7	252.97±42.1	359.38±74.34
N2	253.22±42.06	365.31±75.38	N8	263.26±40.67	375.64±79.02
N3	252.64±42.46	365.08±75.47	N9	250.58±44.17	368.19±81.96
N4	245.65±31.16	366.54±75.87	N10	260.26±46.67	356.46±85.56
N5	243.26±33.26	354.43±74.78	N11	250.37±44.38	359.38±82.67
N6	250.26±44.5	358.77±74.93	N12	250.04±44.7	343.54±58.66

以上所述仅是本发明的优选实施方式，应当指出，对于本技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明原理的前提下，还可以做出若干改进和润饰，这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

以上对本发明所提供的多肽或其衍生物的应用进行了详细介绍。本文应用了具体个例对本发明的原理及实施方式进行了阐述，以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其核心思想。应当指出，对于本技术领域技术人员来说，在不脱离本发明原理的前提下，还可以对本发明进行若干改进和修饰，这些改进和修饰也落入本发明权利要求的保护范围内。