



## (12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 34966 B1** (51) Cl. internationale : **C12Q 1/68**  
(43) Date de publication : **01.03.2014**

---

(21) N° Dépôt :  
**36245**

(22) Date de Dépôt :  
**13.09.2013**

(30) Données de Priorité :  
**17.03.2011 US 61/453,723**

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :  
**PCT/US2012/029205 15.03.2012**

(71) Demandeur(s) :  
**NOVARTIS AG, Lichtstrasse 35 CH-4056 Basel (CH)**

(72) Inventeur(s) :  
**GARDNER, Humphrey Athelstan Roy ; SHI, Michael ; YOVINE, Alejandro**

(74) Mandataire :  
**SABA & CO**

---

(54) Titre : **FGFR ET SES LIGANDS UTILISÉS COMME BIOMARQUEURS DU CANCER DU SEIN CHEZ DES SUJETS RH POSITIFS**

(57) Abrégé : L'invention concerne des méthodes de diagnostic, de traitement et de détermination du pronostic d'un patient atteint du cancer du sein RH+. Ces méthodes consistent à détecter chez un sujet l'amplification d'un ou de plusieurs biomarqueurs comprenant un ligand FGFR tel que FGF3, FGF4, FGF19, et/ou un FGFR tel que par exemple FGFR1; déterminer un inhibiteur de FGFR1 et traiter le sujet sur la base de l'amplification du ou des biomarqueurs détectés chez lui; administrer au sujet qui en a besoin l'inhibiteur FGFR1, et utiliser le ou les biomarqueurs pour indiquer un pronostic concernant le sujet traité avec l'inhibiteur de FGFR1.

5

## ABREGE

10

La présente invention décrit des procédés de diagnostic, de traitement et de détermination  
15 du pronostic d'un patient atteint d'un cancer du sein HR+, lesdits procédés incluant la  
détection de l'amplification d'un ou de plusieurs biomarqueurs comprenant un ligand de  
FGFR tel que FGF3, FGF4, FGF19 et/ou un FGFR tel que par exemple, FGFR1 chez un  
sujet; la détermination d'un inhibiteur de FGFR1 pour le traitement du sujet sur la base de  
20 l'amplification de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux chez le sujet;  
l'administration au sujet qui en a besoin de l'inhibiteur de FGFR1 et l'utilisation de l'un  
des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux pour indiquer le pronostic du sujet traité  
avec l'inhibiteur de FGFR1.

(DIX HUIT PAGES)

NOVARTIS AG.  
P. P. SABA & CO., Casablanca

5

**Domaine de l'invention**

La présente invention concerne le diagnostic et la détermination du pronostic chez les patients cancéreux en utilisant un biomarqueur. En particulier, la présente invention se rapporte au diagnostic, au traitement et à la détermination du pronostic de patients atteints d'un cancer du sein en utilisant un biomarqueur basé sur certains loci de ligands de facteurs de croissance des fibroblastes (FGF), par exemple, FGF3, FGF4 et FGF19, et les combinaisons de FGF3 avec FGF4, FGF19 et un récepteur de facteur de croissance des fibroblastes (FGFR) déterminé, FGFR1.

**Arrière-plan de l'invention**

Les options thérapeutiques pour le traitement des cancers du sein incluent la chirurgie, la radiothérapie, l'endocrinothérapie et la chimiothérapie cytotoxique. Des tentatives limitées de recours à des marqueurs moléculaires qui peuvent fournir des informations sur le pronostic et/ou prédire les résultats du traitement ont été décrites récemment.

La Publ. de la Demande de Brevet U.S. N° 2007/0218512 A1 décrit un biomarqueur basé sur une métalloprotéinase matricielle humaine (MMP) déterminée, MMP-26, pour diagnostiquer et déterminer le pronostic des cancers du sein associés au récepteur d'œstrogène (ER) à base d'hormone. La présence de MMP-26 chez un sujet est la plus favorable en cas de cancer du sein au stade précoce. Lorsqu'un sujet a un cancer du sein au stade précoce, le pronostic est généralement considéré comme bon lorsque la MMP-26 est présente. Cependant, il est décrit en outre que d'autres facteurs peuvent être également pris en considération lorsqu'on fait cette évaluation, comme les informations cliniques et la présence ou non, ainsi que les niveaux d'expression d'autres biomarqueurs. Par conséquent, il subsiste un besoin pour un test fiable permettant de diagnostiquer et de déterminer le pronostic d'un cancer du sein en utilisant des agents thérapeutiques spécifiques. Un tel test pour diagnostiquer et déterminer le pronostic d'un cancer du sein n'exige pas que l'on tienne compte de la présence ou de l'absence, et des niveaux d'expression d'autres biomarqueurs.

Les facteurs de croissance des fibroblastes (FGF) et leurs récepteurs (FGFR) constituent un groupe hautement conservé de protéines ayant des rôles déterminants dans l'angiogenèse, la vasculogenèse et la cicatrisation, ainsi que la structuration tissulaire et la formation des membres lors du développement embryonnaire. Les FGF et les FGFR affectent la migration, la prolifération et la survie des cellules, ayant ainsi un large impact sur la santé et la maladie.

La famille des FGFR comprend quatre types majeurs de récepteurs, FGFR1, FGFR2, FGFR3 et FGFR4. Ces récepteurs sont des protéines transmembranaires ayant

un domaine extracellulaire, un domaine transmembranaire et un domaine intracytoplasmique. Chacun des domaines extracellulaires contient soit deux, soit trois domaines d'immunoglobuline (Ig). Certains des FGFR existent dans des isoformes différentes qui diffèrent par des segments spécifiques de la molécule, comme FGFR-IIIb et FGFR1-IIIc, qui diffèrent dans la région C-terminale du troisième domaine de l'Ig. Les FGFR transmembranaires sont des récepteurs de tyrosine kinase monomères, activés par dimérisation qui a lieu au niveau de la surface cellulaire dans un complexe de dimères de FGFR, de ligands de FGF et de glycanes ou protéoglycanes de type héparine. L'activation des FGFR extracellulaires par la liaison des ligands de FGF à un FGFR amorce une cascade d'événements de signalisation à l'intérieur de la cellule, en commençant par l'activité des récepteurs tyrosine kinase.

L'amplification de FGFR1 a été observée dans 8,7% des tumeurs et était nettement plus répandue chez les patients âgés de plus de 50 ans et dans les tumeurs dépourvues d'expression de HER2. Des études ont démontré que l'amplification du gène de FGFR1 est en corrélation avec l'expression de l'oncogène de FGF. L'activité de FGFR1 est nécessaire à la survie d'une lignée cellulaire de cancer du sein FGFR1 amplifié, comme décrit par Reis-Filho JS, Simpson PT, Turner NC, Lambros MB, Jones C et coll., dans la publication Clin. Cancer Res. 12, 6652-6662 (2006). L'amplification de FGFR1 n'est pas courante dans un cancer du sein HER2 amplifié, comme décrit par Elbauomy Elsheikh S, Green AR, Lambros MB, Turner NC, Grainge MJ et coll., dans la publication Breast Cancer Res. 9, R23 (2007), suggérant que l'amplification de HER2 et de FGFR1 peut être des mécanismes alternatifs et mutuellement exclusifs d'activation de voies similaires situées en aval, qui déterminent la prolifération tumorale et un mauvais pronostic. Les mêmes auteurs ont suggéré que les amplifications de FGFR1 étaient associées à un mauvais pronostic chez un patient atteint d'une tumeur récepteur d'œstrogène (ER)-positive. Un niveau élevé d'amplification de FGFR1 est principalement rencontré dans les cancers du sein ER-positifs, de type luminal B, présentant un mauvais pronostic, comme le décrivent Chin K, DeVries S, Fridly et J, Spellman PT, Roydasgupta R et coll., dans la publication Cancer Cell 10, 529-541 (2006), comme décrit par Courjal F, Theillet C, (1997). Une analyse d'hybridation génomique comparative de tumeurs du sein ayant des profils d'amplification d'ADN prédéterminés est présentée dans Cancer Res. 57, 4368-4377 et également décrite par Reis-Filho JS, Simpson PT, Turner NC, Lambros MB, Jones C et coll., dans la publication Clin. Cancer Res. 12, 6652-6662 (2006).

Il a été découvert de manière surprenante que l'amplification du récepteur de FGFR1 et l'amplification du ligand de FGF3 sont utiles comme marqueurs moléculaires pour les cancers du sein traités par un inhibiteur de FGFR (cancers du sein sensibles aux inhibiteurs de FGFR) et procurent un procédé fiable pour à la fois diagnostiquer et déterminer le pronostic chez des patients suivant un traitement contre le cancer du sein utilisant un inhibiteur de FGFR.

La présente invention fournit également un procédé pour diagnostiquer un cancer associé à l'amplification d'un ligand de FGF ou à l'amplification de FGFR chez un sujet, ledit procédé comprenant l'étape consistant à: détecter l'amplification d'un biomarqueur comprenant un ligand de FGF chez le sujet, la présence ou les quantités du ligand de FGF étant révélatrice(s) du cancer.

La présente invention fournit également un procédé pour diagnostiquer un cancer associé à l'amplification de FGF3 chez un sujet, ledit procédé comprenant l'étape consistant à: détecter l'amplification d'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez le sujet, l'amplification de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux étant révélatrice du cancer.

La présente invention fournit également un procédé pour diagnostiquer un cancer associé à l'amplification de FGFR1 chez un sujet, ledit procédé comprenant l'étape consistant à: détecter l'amplification d'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez le sujet, l'amplification de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux étant révélatrice du cancer.

La présente invention fournit également un procédé de traitement d'un cancer chez un sujet, ledit procédé comprenant les étapes consistant à: (a) détecter l'amplification d'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez un sujet; et (b) déterminer un inhibiteur de FGFR1 pour le traitement du sujet sur la base de l'amplification de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux chez le sujet; et administrer l'inhibiteur de FGFR au sujet qui en a besoin.

La présente invention fournit également un procédé pour déterminer le pronostic chez un sujet atteint d'un cancer et traité avec un inhibiteur de FGFR1, ledit procédé comprenant l'étape consistant à: détecter un ou plusieurs biomarqueurs choisis parmi un ligand de FGFR, par exemple, FGF3, FGF4, FGF19, un FGFR, par exemple, FGFR1, FGFR2 et leurs combinaisons, chez le sujet, la présence ou les quantités de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux donnant une indication du pronostic chez le sujet traité avec l'inhibiteur de FGFR1.

La présente invention fournit également un procédé pour déterminer le pronostic chez un sujet atteint d'un cancer et traité avec un inhibiteur de FGFR1, ledit procédé comprenant l'étape consistant à: détecter un biomarqueur comprenant FGF3 chez le sujet, la présence ou les quantités de FGF3 donnant une indication du pronostic chez le sujet traité avec l'inhibiteur de FGFR1.

La présente invention fournit aussi une trousse comprenant un dosage pour déterminer la présence ou les quantités de FGF3 chez un sujet.

La présente invention fournit également une trousse comprenant un dosage pour déterminer la présence ou les quantités d'un ou de plusieurs biomarqueurs parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez un sujet.

#### Description détaillée de l'invention

L

Tel qu'utilisé ici, le terme sujet englobe, mais sans s'y limiter, n'importe quel mammifère (par exemple, un humain, un cheval, un cochon, un lapin, un chien, un mouton, une chèvre, un primate non humain, une vache, un chat, un cochon d'Inde ou un rongeur). Ce terme ne désigne pas un âge ou un sexe particulier. Ainsi, les sujets adultes ou les nouveau-nés, ainsi que les fœtus, qu'ils soient mâles ou femelles, doivent être englobés par ce terme. Un patient désigne un sujet atteint d'une maladie ou d'un trouble. Le terme patient englobe les sujets humains et vétérinaires.

Tel qu'utilisé ici, le terme traitement signifie la prise en charge médicale d'un patient dans l'intention de soigner, d'améliorer, de stabiliser ou de prévenir un cancer. Ce terme englobe un traitement actif qui vise à éliminer la cause du cancer associé.

Le terme diagnostic d'un cancer se réfère à la détection de quantités d'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez le sujet, la présence ou les quantités de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux étant révélatrice(s) du cancer. Le terme pronostic englobe les prédictions concernant l'évolution probable du cancer ou la progression du cancer, en particulier, en ce qui concerne la probabilité de rémission, de rechute, de récurrence tumorale, de métastase et de décès. Un bon pronostic désigne la probabilité qu'un patient atteint d'un cancer, en particulier, d'un cancer du sein, ne connaisse pas de récurrence. Un mauvais pronostic signifie la probabilité d'une rechute ou d'une récurrence du cancer ou de la tumeur sous-jacent(e), d'une métastase ou d'un décès.

Les procédés de détection de l'amplification, telle que l'amplification du locus d'un ligand de FGFR ou d'un FGFR, comme par exemple, FGF3, FGF4, FGF19 et FGFR1, sont des procédés tels qu'une hybridation de chromosomes in situ. L'homme du métier saurait quels sont les procédés d'hybridation in situ qui permettent la détection et la quantification de l'amplification du locus. De tels procédés sont par exemple les procédés CISH, SISH ou q-PCR. De tels procédés sont bien connus dans la technique et incluent, mais sans limitation, les transferts de Western, les transferts de Northern, les transferts de Southern, le dosage ELISA, l'immunoprécipitation, l'immunofluorescence, la cytométrie de flux, l'immunohistochimie, les techniques d'hybridation d'acide nucléique, les méthodes de transcription inverse d'acide nucléique et les méthodes d'amplification d'acide nucléique. Le terme "détecter une amplification" signifie déterminer la présence et la quantité d'une protéine ou d'un gène biomarqueur. Afin de déterminer l'amplification, on peut comparer l'échantillon à examiner avec un échantillon correspondant qui provient d'une personne en bonne santé, et le nombre de copie du locus est plus élevé dans l'échantillon que dans celui provenant de la personne en bonne santé, ou le nombre de copie du locus est supérieur à 1, par exemple, le locus est amplifié 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou plus de 10 fois.

Les biomarqueurs FGF3, FGF4, FGF19 et FGFR1 de l'invention sont obtenus à partir d'échantillons provenant d'un sujet. Parmi les exemples de tels échantillons, on peut citer mais sans s'y limiter, le sang, la lymphe, l'urine, les fluides gynécologiques, les

biopsies et les frottis. Les liquides corporels utiles dans la présente invention incluent le sang, l'urine, la salive, les produits d'aspiration du mamelon, ou tout autre sécrétion corporelle ou dérivé. Le sang peut englober le sang total, le plasma, le sérum ou n'importe quel dérivé de sang. Dans des exemples de modes de réalisation, l'échantillon comprend des cellules mammaires, y compris un tissu mammaire provenant d'une biopsie ou un échantillon de tissu de tumeur mammaire. Cependant, l'échantillon ne comporte pas nécessairement de tissu mammaire et peut être obtenu à partir de tissu, fluide ou cellules normal(es). Les échantillons peuvent être obtenus chez un sujet grâce à une variété de techniques, y compris par exemple, par raclage ou écouvillonnage d'une zone, en utilisant une aiguille pour aspirer les liquides corporels ou en prélevant un échantillon de tissu (c'est-à-dire, une biopsie). Les procédés de collecte de divers échantillons sont bien connus dans la technique.

Les cancers diagnostiqués en utilisant un ou plusieurs biomarqueurs de l'invention englobent, par exemple, la leucémie, y compris la leucémie lymphoblastique aiguë à cellules B, la leucémie myélomonocytaire chronique, la leucémie lymphocytaire chronique et la leucémie myéloïde chronique; le lymphome, y compris le lymphome hodgkinien, le lymphome non hodgkinien et le lymphome extraganglionnaire; le myélome, y compris le plasmocytome; le sarcome, y compris les néoplasmes malins de l'os et des tissus mous; le cancer neurologique, y compris les néoplasmes malins du cerveau; le cancer du sein, y compris les néoplasmes malins du sein chez la femme; le cancer du tractus digestif/gastro-intestinal, y compris les néoplasmes malins de l'ampoule de Vater, de l'appendice, du côlon, du duodénum, de l'œsophage, du foie, du pancréas, du péritoine, du rectum, de l'intestin grêle et de l'estomac; le cancer endocrinien, y compris les néoplasmes malins de la glande surrénale, des îlots de Langerhans et de la glande thyroïde; le cancer de l'œil, y compris les néoplasmes malins de l'œil; le cancer génito-urinaire, y compris les néoplasmes malins de la vessie, du rein, de la prostate et des testicules; le cancer gynécologique, y compris les néoplasmes malins du col de l'utérus, du myomètre, de l'ovaire, de l'utérus, de l'endomètre, du placenta et de la vulve; le cancer de la tête et du cou, y compris les néoplasmes malins du larynx, de la glande salivaire, de la cavité nasale, de la cavité orale, de la glande parotide et de la langue; le cancer des voies respiratoires/thoracique, y compris les néoplasmes malins du poumon, du thymus et de la trachée; et le cancer de la peau.

Selon l'un des modes de réalisation, un procédé est fourni pour diagnostiquer un cancer du sein associé à une amplification d'un ligand de FGFR chez un sujet. ledit procédé comprenant les étapes consistant à: détecter l'amplification d'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez le sujet, l'amplification de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux étant révélatrice du cancer.

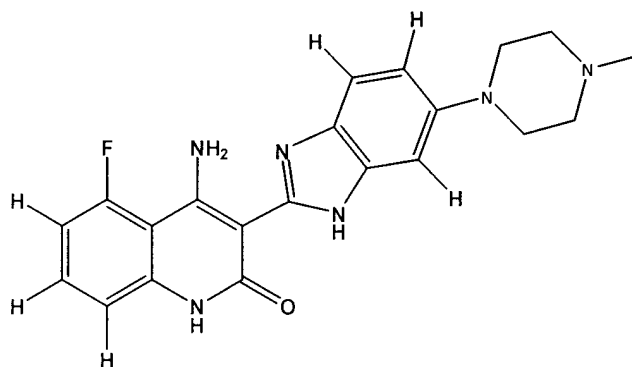
Selon un mode de réalisation séparé, un procédé est fourni pour diagnostiquer un cancer du sein associé à HR+, et à une amplification de FGFR et/ou une amplification

d'un ligand de FGFR chez un sujet, ledit procédé comprenant les étapes consistant à détecter l'amplification d'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez le sujet, la présence et l'amplification de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux étant révélatrices du cancer.

5 Selon un autre mode de réalisation, un procédé est fourni pour le pronostic d'un cancer du sein associé à HR+, et à une amplification de FGFR et/ou une amplification d'un ligand de FGFR chez un sujet, ledit procédé comprenant l'étape consistant à détecter l'amplification d'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez le sujet, la présence et l'amplification de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux étant révélatrices de la sensibilité d'une maladie  
10 cancéreuse du sein au traitement du cancer du sein avec un inhibiteur de FGFR1, comme par exemple, le dovitinib ou un tautomère ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

Selon l'un des modes de réalisation, un inhibiteur de FGFR, la 4-amino-5-fluoro-3-[6-(4-méthylpipérazin-1-yl)-1H-benzimidazol-2-yl]-1H-quinoléin-2-one ou un tautomère  
15 de celle-ci, est utile dans le traitement d'un cancer du sein et d'autres types de tumeur avec les activations de la voie de FGFR et de FGF, comme déterminé par un biomarqueur FGFR1 ou FGF3.

Le composé 4-amino-5-fluoro-3-[6-(4-méthylpipérazin-1-yl)-1H-benzimidazol-2-yl]-1H-quinoléin-2-one (également appelé dovitinib) ou un tautomère ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci, de formule I  
20



(I)

25 inhibe certaines protéine-kinases, comme les récepteurs tyrosine-kinases (RTK). Le composé et ses sels pharmaceutiquement acceptables, y compris le sel d'acide monolactique, sont décrits dans les Brevets U.S. N° 6,605,617, 6,774,237, 7,335,774 et 7,470,709, et dans les Demandes de Brevet U.S. de N° de série 10/982,757, 10/982,543 et 10/706,328, et dans les demandes PCT publiées WO 2006/127926 et WO2009/115562.

30 L'activité antitumorale du dovitinib a été évaluée dans une variété de modèles de xénogreffe tumorale chez des souris athymiques. Dans tous les modèles testés, le dovitinib administré par voie orale a donné des réponses antitumorales allant de



l'inhibition de croissance et la stase à la régression dans les modèles tumoraux contrôlés par des mutations activatrices des cibles du dovitinib. Par ailleurs, dans un modèle de maladie disséminée, la colonisation par des cellules de cancer du sein des foies de souris à partir d'une xénogreffe sous-cutanée (SC) primaire était nettement réduite par traitement oral à l'aide de dovitinib. Pour démontrer que l'inhibition directe des RTK dans les tumeurs était un mécanisme primaire d'inhibition de la croissance de xénogreffe par le dovitinib, on a mis en évidence que la phosphorylation de la tyrosine des protéines de signalisation en aval de FGFR AKT (également connue sous le nom de protéine kinase B) et ERK (également connue sous le nom de MAPK) est inhibée après une seule dose orale de dovitinib. L'inhibition a été observée jusqu'à 24 heures dans certains modèles.

Selon l'un des modes de réalisation, un procédé de traitement d'un cancer du sein chez un sujet, ledit procédé comprenant les étapes consistant à: (a) détecter la présence ou la quantité d'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez un sujet; et (b) déterminer un inhibiteur de FGFR1 pour le traitement du sujet sur la base de la présence ou de la quantité de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux chez le sujet; et administrer l'inhibiteur de FGFR1 au sujet qui en a besoin.

Selon l'un des modes de réalisation, un procédé pour déterminer le pronostic d'un sujet atteint d'un cancer et traité avec un inhibiteur de FGFR1, ledit procédé comprenant l'étape consistant à: détecter un ou plusieurs biomarqueurs choisis parmi FGF3, FGF4, FGF19, FGFR1 et leurs combinaisons chez le sujet, la présence ou les quantités de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux donnant une indication du pronostic chez le sujet traité avec l'inhibiteur de FGFR1.

Un inhibiteur de FGFR1, tel que le dovitinib ou un tautomère de celui-ci, ou un de leurs sels pharmaceutiquement acceptables, à utiliser dans le traitement ou le pronostic d'un cancer du sein, le cancer du sein étant HR+ et le patient ayant une amplification du locus d'un ou de plusieurs ligands de FGFR, tels que FGF3, FGF4, FGF19 et/ou FGFR, comme FGFR1 ou FGFR2.

Des trousse pour la mise en œuvre des procédés décrits ici sont en outre fournies. On entend par "trousse" tout produit manufacturé (par exemple, un conditionnement ou un récipient) comprenant au moins un réactif pour détecter spécifiquement l'expression d'un ou de plusieurs biomarqueurs parmi FGF3, FGF4, FGF19 et FGFR1. La trousse peut être proposée, distribuée ou commercialisée sous forme d'unité permettant la mise en œuvre des procédés de la présente invention. De plus, les trousse peuvent contenir une notice décrivant la trousse et ses procédés d'utilisation. On peut fournir tout ou partie des réactifs de la trousse dans des récipients qui les protègent de l'environnement extérieur, tels que des récipients scellés. Des témoins positifs et/ou négatifs peuvent être inclus dans les trousse pour valider l'activité et corriger l'usage des réactifs employés conformément à l'invention. Les témoins peuvent inclure des échantillons, tels que des coupes de tissu.

des cellules fixées sur des lames de verre, etc., connus pour être positifs ou négatifs en ce qui concerne la présence du biomarqueur en question.

Des modes de réalisation spécifiques de l'invention seront maintenant démontrés en se référant aux exemples suivants. Il est entendu que ces exemples sont décrits  
5 uniquement pour illustrer l'invention et ne doivent pas être considérés en aucune manière comme limitant le cadre de la présente invention.

#### EXEMPLE 1

Etude clinique pour tester l'efficacité du dovitinib dans un cancer du sein métastatique  
10 FGFR1 amplifié ou non amplifié

Un essai multicentrique, ouvert, de phase 2, du dovitinib a été effectué pour évaluer l'activité clinique du dovitinib et pour tester son efficacité clinique dans un cancer du sein métastatique FGFR1 amplifié ou non amplifié. L'efficacité et l'innocuité du dovitinib ont été étudiées dans 4 groupes de patients atteints de cancer du sein  
15 métastatique: (Groupe 1: FGFR1+, HR+), (Groupe 2: FGFR1+, HR-) (Groupe 3: FGFR1-, HR+), (Groupe 4: FGFR1-, HR-). La sélection des patients s'est effectuée conformément à FISH/CISH pour FGFR1 (seuil de coupure  $\geq 6$  copies du gène). Le dovitinib (500 mg) a été administré une fois par jour selon un schéma de 5 jours avec/ 2 jours sans. Le critère d'évaluation principal était le meilleur taux de réponse global selon  
20 les critères RECIST chez les patients souffrant d'une maladie mesurable par revue externe de radiologie.

Critères d'inclusion:

1. Les patients ont une confirmation histologique d'un cancer du sein avec un diagnostic clinique d'IBC basé sur la présence de changements inflammatoires  
25 dans le sein concerné, notamment un érythème diffus et un œdème (peau d'orange), avec ou sans masse palpable sous-jacente touchant la majeure partie de la peau du sein. Des preuves pathologiques d'envahissement lymphatique dermique doivent être notées mais ne sont pas nécessaires pour le diagnostic.
2. Les patients ont une maladie au stade IV avec une récurrence locale ou à distance.
- 30 3. Les patients présentent une expression HER2 négative par IHC (définie comme étant 0 ou 1+) ou par FISH (hybridation in situ sous marquage fluorescent). Si HER2 est 2+, l'expression HER2 négative doit être confirmée par FISH.
4. Les patients est capable d'avalier et de garder les médicaments pris par voie orale.
- 35 5. Les patients présentent un indice fonctionnel de l'ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) de 0-2.
6. Les patients ont reçu jusqu'à 3 chimiothérapies standard contre la maladie métastatique et ont rechuté.
7. Les patients ont la capacité et la volonté de signer un consentement éclairé écrit.
- 40 8. Les patients sont âgés de 18 ans ou plus.

- 5
9. Les patientes en âge de procréer (femme ne présentant pas d'aménorrhée de plus de 2 ans ou n'ayant pas subi de stérilisation chirurgicale) doivent être disposées à utiliser deux méthodes de contraception adéquates dite de barrière pour éviter une grossesse ou s'engager à s'abstenir de toute activité hétérosexuelle pendant toute la durée de l'étude.
10. Les patientes en âge de procréer doivent présenter un test de grossesse sérique négatif.
11. Si les patients ont été traités avec des agents anti-VEGF, comme le Bevacizumab, la dernière dose doit dater de plus de 4 semaines.
- 10 12. Les patients disposent d'un prélèvement biopsique de tissu de la maladie métastatique (y compris la paroi thoracique ou les ganglions régionaux) (blocs de paraffine ou jusqu'à 20 lames non colorées), si aucun prélèvement biopsique de tissu n'est disponible, une biopsie (ou une thoracentèse si le patient a un épanchement pleural uniquement) de la maladie métastatique sera effectuée
- 15 pour confirmer les diagnostics.

Critères d'exclusion:

1. Les patients reçoivent une thérapie anticancéreuse concomitante (chimiothérapie, immunothérapie, radiothérapie et traitement biologique) tout en prenant le médicament à l'étude.
- 20 2. Fonctions hépatiques anormales constituées de n'importe lequel des critères suivants: a) bilirubine sérique  $\geq 1,5 \times \text{ULN}$ , b) AST et ALT  $\geq 2,5 \times \text{ULN}$ , (pour les patients ayant une métastase hépatique connue, AST et ALT  $\leq 5 \times \text{ULN}$  sont autorisés), ANC  $< 1,5$ .
- 25 3. Les patients présentent une infection active et nécessitent des antibiotiques par voie IV ou orale.
- 30 4. Altération de la fonction cardiaque et des maladies cardiaques cliniquement significatives, y compris ce qui suit: a) Antécédents ou présence d'arythmies ventriculaires non contrôlées graves ou présence de fibrillation auriculaire; b) Bradycardie au repos cliniquement significative ( $< 50$  battements par minute);
- 35 c) LVEF  $< 45\%$  évalué par échocardiographie bidimensionnelle (ECHO) ou ventriculographie isotopique à l'équilibre (MUGA, Multiple Gated Acquisition Scanning); d) Tout ce qui suit dans les 6 mois qui précèdent l'entrée dans l'étude: infarctus du myocarde (IM), angine sévère/instable, pontage aorto-coronarien (CABG, Coronary Artery Bypass Graft), insuffisance cardiaque congestive (CHF, Congestive Heart Failure), Accident Vasculaire Cérébral (AVC), Accident Ischémique Transitoire (AIT), Embolie Pulmonaire (EP); e) Hypertension non normalisée définie par une PAS (Pression Artérielle Systolique)  $> 150$  et/ou une PAD (Pression Artérielle Diastolique)  $> 100$  mm Hg avec ou sans médicament antihypertenseur.

5. Antécédents de troubles gastro-intestinaux (troubles pathologiques ou chirurgie lourde) qui peuvent interférer avec l'absorption du médicament à l'étude.
6. Les patients souffrent d'une maladie ou d'une affection concomitante qui les rendraient inaptes à la participation à l'étude, ou n'importe quel trouble pathologique grave qui interfèrerait avec la sécurité des patients.
7. Patients souffrant d'une maladie limitée localement ou à une région sans aucune preuve de maladie métastatique.

A compter de janvier 2011, 81 patients ont été traités avec des résultats disponibles pour 77 patients (Groupe 1 = 21, Groupe 3 = 34, Groupe 4 = 22). Avant la thérapie dans le contexte métastatique: une médiane de 2 options de chimiothérapie (l'ensemble des patients) et 2 options d'endocrinothérapie (Patients HR+). 58% des patients au total avaient des métastases hépatiques (Groupe 1: 81%, Groupes 3,4: 50%). Les manifestations indésirables les plus courantes comprenaient: vomissement (75%; de grade 3 [Groupe 3]: 6%), diarrhée (72%; Groupe 3: 6%), nausée (62%; Groupe 3: 5%) et asthénie (61%; Groupe 3: 17%). L'exposition médiane était de 1,7 mois (intervalle, 0-8,2 mois), y compris 8 patients qui ont reçu un traitement > 4 mois. Pour les patients souffrant d'une maladie mesurable à la ligne de base: Les groupes 1, 2 (13%) avaient des réponses partielles (RP) non confirmées et 7 patients (44%) présentaient une maladie stable (SD)  $\geq$  4 mois (SD4); Groupes 3 et 4, une SD4 a été respectivement observée chez 8 (29%) et 2 (11%) patients.

Le dovitinib présentait une activité antitumorale dans une population souffrant de cancer du sein, traitée au préalable. L'activité a été observée chez les patients HR+ souffrant d'une maladie FGFR1-amplifié avec une stabilisation de la maladie observée dans d'autres sous-groupes. Il a été découvert que le FGFR1 est une cible pertinente dans le cas du cancer du sein et une amplification de FGFR1 définit un cancer du sein sensible à un segment moléculaire du dovitinib, comme le résumant les résultats cliniques du Tableau 1. Le groupe 1 englobe des patients qui sont à la fois HR+ et FGFR1 amplifié. Le groupe 3 englobe des patients qui sont HR+ et FGFR1 non amplifié mais qui pourraient présenter une autre amplification de FGFR et/ou de ligand de FGF.

Tableau 1. Taux de réponse global pour des groupes de patients sélectionnés tels que définis par l'étude clinique de l'Exemple 1

(Date limite de collecte des données: 24/11/2010)	Groupe 1	Groupe 3	Groupe 4
	FGFR1 amplifié	FGFR1 non amplifié	FGFR1 non amplifié
	HR+	HR+	HR-
N = (%)	Mesurable (n=16)*	Mesurable (n=30)	Mesurable (n=18)
RP non confirmée	2 (12,5) <sup>1</sup>	-	-
SD	7 (43,8)	14 (46,7)	4 (22,2)
SD ≥ 14 semaines	5 (31,3)	8 (26,7)	2 (11,1)
PD	4 (25,0)	9 (30,0)	6 (33,3)
Inconnu	3 (18,8)	7 (23,3)	8 (44,4)

EXEMPLE 2: Etude clinique pour tester l'efficacité d'un inhibiteur de FGFR1 (Dovitinib) chez des patients souffrant de cancers du sein FGFR1 amplifié

5 Après l'analyse des résultats de l'étude clinique du dovitinib des groupes de patients 1, 3 et 4, on a également effectué des analyses exploratoires pour évaluer davantage les réponses cliniques chez les patients souffrant de tumeurs portant des amplifications de gènes supplémentaires. On a également procédé à des amplifications de ligands de FGF (FGF3, FGF4, FGF19) ainsi qu'une amplification du gène de FGFR2  
10 comme défini préalablement dans un protocole. Le protocole décrit les méthodes utilisées pour l'analyse du nombre de copies du gène de FGFR1 et FGF3 en utilisant les analyses du nombre de copies TaqMan™ préconfigurées d'ABI.

Résumé de la méthode

15 Les TaqMan® Copy Number Assays de FGFR1 et FGF3 ont été commandées auprès de Applied Biosystems et sont réalisées conjointement avec une TaqMan® Copy Number Reference Assay dans une PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel en duplex. La Copy Number Assay détecte le gène cible en question (FGFR1 ou FGF3 dans

ce cas) et la Reference Assay (RNase P) détecte une séquence qui est connue pour être présente en deux copies dans un génome diploïde. Cette méthode de quantification relative est utilisée pour déterminer le nombre de copies relative de la cible en question dans un échantillon d'ADN génomique, étalonné par rapport au nombre de copies du gène de référence.

Chaque TaqMan® Copy Number Assay contient deux amorces non marquées pour amplifier et une sonde TaqMan® MGB pour détecter la séquence cible en question. La sonde possède un colorant rapporteur FAM™ fixé à l'extrémité 5' et un agent d'extinction non fluorescent (Non Fluorescent Quencher, NFQ) et un lieu du sillon mineur (Minor Groove Binder, MGB), fixés à l'extrémité 3'. Les MGB augmentent la température de fusion (melting temperature, Tm) sans augmenter la longueur de la sonde.

La TaqMan® Copy Number Reference Assay contient deux amorces non marquées pour amplifier et une sonde TaqMan® MGB pour détecter le gène de RNase P. La sonde possède un colorant rapporteur VIC™ fixé à l'extrémité 5' et un agent d'extinction TAMRA™ fixé à l'extrémité 3'.

Un dosage par PCR en temps réel TaqMan a été réalisé pour le gène en question (FGFR1 ou FGF3) et la RNase P dans un protocole de PCR en duplex fourni par ABI sur un instrument de PCR en temps réel BioRad™ CFX96. Le calcul du nombre de copies était basé sur les valeurs de  $\Delta\Delta Ct$  du gène en question (FGFR1 ou FGF3) versus la RNase P d'échantillon inconnu versus un ADN témoin normal. L'ADN témoin normal est un échantillon d'ADN génomique disponible dans le commerce qui a un génome diploïde.

Réactifs

Réactif	Fournisseur/Fabricant
Eau de qualité moléculaire	Divers
TaqMan Universal PCR Master Mix	Applied Biosystems
Hs-02109929 FGFR1 Copy Number Assay	Applied Biosystems
Hs-01200530 FGF3 Copy Number Assay	Applied Biosystems
TaqMan Copy Number RNaseP Reference Assay	Applied Biosystems

Protocole

1. Un mélange maître a été préparé en utilisant les volumes énumérés ci-dessous, en prenant en compte un surdosage de 10% pour les erreurs de pipetage, et en mélangeant soigneusement chaque réactif avant usage.

Composant	1 x Réaction
Eau de qualité moléculaire	3 µL
TaqMan Universal Master Mix	5 µL
TaqMan Copy Number Assay, 20x	0,5 µL
TaqMan RNase P Reference Assay, 20x	0,5 µL
Total	9 µL

2. Un volume de 9 µL de mélange maître a été réparti dans chaque puits d'une plaque de PCR.
3. Un volume de 1 µL d'ADN matrice (10 ng/µL) a été ajouté aux puits. Les plaques de PCR ont été fermées hermétiquement puis centrifugées brièvement pour s'assurer que le mélange maître et l'échantillon sont collectés au fond du puits.
4. Une plaque de réaction a été introduite dans un instrument de PCR en temps réel BioRadCFX96.
5. Le dosage par PCR dans la plaque de réaction a été effectué en utilisant les paramètres de fonctionnement suivants:
  - 10 min à 95°C suivis de 40 cycles de
    - 15 s à 95°C
    - 60 s à 60°C
6. Le dosage par PCR a été mis en place et démarré à l'aide du logiciel CFX Manager Software selon le manuel d'utilisateur du système de détection par PCR en temps réel CFX96.

#### Analyse des données

L'analyse des données a été réalisée en utilisant un mode d'expression génique selon le manuel d'utilisateur du système de détection par PCR en temps réel CFX96.

On a passé en revue les données du tableau d'expression génique et on a attribué le statut amplifié/non amplifié aux échantillons sur la base des critères suivants:

Une valeur d'expression < 2 indique que c'est "non amplifié"

Une valeur d'expression = ou > 2 indique que c'est "amplifié"

Le nombre de copies du gène en question correspond à 2x la valeur d'expression.

#### Références

CFX96 and CFX384 Real-Time PCR Detection Systems Instruction Manual. Bio-Rad Laboratories, 2008

TaqMan Copy Number Assays Protocol. Applied Biosystems, 2010

Cette analyse incluait l'ensemble des patients présentant un cancer du sein mesurable, tel que déterminé par un membre du jury, avec un statut des gènes de la voie des FGF "connu".

Après avoir établi le profil de tous les patients avec les gènes de la voie des FGF, 18 patients ont été identifiés avec un FGF connu amplifié (soit FGFR1, soit FGFR2, soit FGF3).

Groupe 1 = 16 patients avec une amplification de FGFR1

Groupe 3 = 1 patient avec une amplification de FGF3 et 1 patient avec une amplification de FGFR2

10 Groupe 4 = aucun n'avait une amplification des gènes de la voie des FGF

Les analyses exploratoires des biomarqueurs ont révélé que les deux premiers patients présentant le rétrécissement le plus important de la tumeur sont ceux avec à la fois une amplification du gène de FGFR1 et du gène de FGF3, comme le résume le Tableau 2. Les patients présentant le rétrécissement le plus important de la tumeur (< 15 20%) correspondaient à une amplification du gène de FGFR1, FGFR2 ou FGF3.

Tableau 2. Résultats des analyses exploratoires des biomarqueurs chez les patients présentant une SD et une PFS > 100 jours

ID Patient	Réponse ACCORDEE*	PFS ACCORDEE	Rétrécissement max de la tumeur	FGFR1 SISH	FGFR1 q-PCR	FGFR2 q-PCR	FGF3 q-PCR
2-10	SD	109	-100,0	6,5	10	pas d'amp	8
502-6	NoPD4	224+	-30,8	7,7	16	pas d'amp	6
2-9	SD	111	-28,2	pas d'amp	pas d'amp	4	pas d'amp
2-11	SD	109	-23,0	pas d'amp	4	pas d'amp	8
4-8	SD	131	-20,8	8,3	6	pas d'amp	pas d'amp
3-11	SD	110	-18,5	pas d'amp	pas d'amp	pas d'amp	3
2-13	NoPD4	111+	-12,6	pas d'amp	pas d'amp	pas d'amp	pas d'amp
4-6	NoPD4	107+	-7,5	6,1	10	pas d'amp	10

20 Réponse accordée: Réponse clinique évaluée par un radiologiste expérimenté qui n'est pas au courant de l'étude.

PFS accordée: survie sans progression accordée



NoPD4: patients présentant une maladie stable (SD) en tant que meilleure réponse globale et au moins une deuxième mesure de maladie stable  $\geq 14$  sem à partir du traitement de départ

SD: maladie stable

5 Après le regroupement des patients présentant un dérèglement de la voie des FGF, par exemple, une amplification de FGF mais sans dérèglement de la voie des FGF, par exemple, FGF- non amplification, un avantage clinique incontestable a été observé dans le groupe des FGF amp, avec 2 réponses partielles non confirmées et 50% des patients  
10 le dovitinib est plus efficace chez les patients ayant un dérèglement de la voie des FGF, par exemple, une amplification des gènes de FGFR1, FGFR2, FGF3.

Tableau 3. Réponse globale chez des patients présentant une amplification de FGF3 et/ou FGFR1 ou FGFR2

<b>(Date limite de collecte des données: 24/11/2010)</b>	<b>FGF amp</b>	<b>FGF nonAmp</b>
<b>N = (%)</b>	<b>Mesurable (n=18)*</b>	<b>Mesurable (n=36)</b>
<b>RP non confirmée</b>	<b>2 (11,1)<sup>1</sup></b>	<b>-</b>
<b>SD</b>	<b>9 (50)</b>	<b>10 (27,8)</b>
<b>SD <math>\geq 14</math> sem</b>	<b>7 (38,9)</b>	<b>7 (19,4)</b>
<b>PD</b>	<b>4 (22,2)</b>	<b>13 (36,1)</b>
<b>Inconnu</b>	<b>3 (16,7)</b>	<b>13 (36,1)</b>

15 Selon le tableau 3, le groupe des patients qui sont FGF non amplifié englobe les patients qui sont à la fois HR+ et HR-. Dans le groupe de patients présentant une amplification de FGF, tous les patients sont HR+.

Les résultats ci-dessus confortent la méthode de diagnostic et de pronostic selon la présente invention.

REVENDICATIONS

1. Procédé de diagnostic d'un cancer du sein chez un sujet, ledit procédé comprenant l'étape de sélection du patient chez lequel le cancer du sein est HR positif et de détection de l'amplification d'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi un ligand de FGFR et/ou un FGFR et leurs combinaisons chez le sujet.  
5
2. Procédé de traitement d'un cancer du sein chez un sujet, ledit procédé comprenant les étapes consistant à: (a) sélectionner le patient chez lequel le cancer du sein est HR positif; (b) détecter la présence d'amplification ou la quantité de l'un ou de plusieurs biomarqueurs choisis parmi un ligand de FGFR et/ou un FGFR, et leurs combinaisons chez un sujet; et (c) déterminer un inhibiteur de FGFR1 pour le traitement du sujet sur la base de la présence ou de la quantité de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux chez le sujet; et administrer l'inhibiteur de FGFR1 au sujet qui en a besoin.  
10  
15
3. Procédé de détermination du pronostic d'un sujet atteint d'un cancer du sein HR+ et traité avec un inhibiteur de FGFR1, ledit procédé comprenant l'étape consistant à: détecter un ou plusieurs biomarqueurs choisis parmi un ligand de FGFR et/ou un FGFR, et leurs combinaisons chez le sujet, dans lequel l'amplification de l'un des biomarqueurs ou de plusieurs d'entre eux donne une indication du pronostic du sujet traité avec l'inhibiteur de FGFR1.  
20
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1, 2 et 3, dans lequel l'inhibiteur de FGFR1 est le dovitinib ou l'un de ses tautomères.  
25
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel le biomarqueur du ligand de FGFR est choisi dans le groupe constitué par l'amplification du ligand de FGF3, FGF19 et FGF4, de préférence, l'amplification du ligand de FGF3.  
30
6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel le biomarqueur comprend l'amplification de FGFR1.
7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans lequel le biomarqueur comprend l'amplification de FGFR2.  
35
8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 5 à 7, dans lequel le nombre d'amplifications varie de 5-10.

A

9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1, 2 et 3, dans lequel l'inhibiteur de FGFR1 est le dovitinib ou l'un de ses tautomères.