



As. 109.391

Señor

**DIRECTOR DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES  
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO**

E.

S.

D.

REF: Expediente No. **09-10531-** solicitud de patente de invención a favor de **COLUMBIA UNIVERSITY** Título **COMPOSICIONES ANTI-COCAINA Y TRATAMIENTO**

### RECURSO DE REPOSICIÓN

**JUAN PABLO CADENA SARMIENTO**, portador de la tarjeta profesional No. 57.492 del C.S.J., obrando como apoderado de la sociedad solicitante, manifiesto a usted que debidamente notificado de la Resolución No. 10572 del 18 de Marzo de 2013, interpongo contra ella en debido término, **RECURSO DE REPOSICIÓN**, para que sea revocada en su totalidad, y en su lugar se conceda el Privilegio de Patente, para el objeto de la solicitud en referencia.

Respaldo el RECURSO en los siguientes

### HECHOS

1. La resolución arriba citada No. 10572 niega el Privilegio exclusivo de Patente de Invención para el objeto de la solicitud de la referencia, considerando que el capítulo reivindicatorio carece de nivel inventivo. Lo anterior, de acuerdo con las siguientes consideraciones.

i. Determinación del Estado de la Técnica

Consultadas las fuentes de información con que se cuenta se encontraron los siguientes documentos, que afectan el nivel inventivo de esta solicitud.

| No        | Documento                                                               | Título                                                                                                        | Publicación |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>D1</b> | Bresler M., <i>et al.</i> Appl. Environ. Microbiol. Vol 66 (3): 904-908 | "Gene cloning and nucleotide sequencing and properties of a cocaine esterase from Rhodococcus sp. Strain MB1" | Marzo 2000  |
| <b>D2</b> | Larsen N., <i>et. al.</i> Nature Structural Biology, vol 9(1):17-21     | "Crystal structure of a bacterial cocaine esterase"                                                           | Enero 2002  |
| <b>D3</b> | Lehman, <i>et. al.</i> Current                                          | "Engineering proteins for                                                                                     | 2001        |

|           |                                                                          |                                                                                                      |            |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
|           | Opinion in Biotechnology<br>2001, 12:371-375                             | thermostability: the use of<br>sequence alignments versus rational<br>design and directed evolution" |            |
| <b>D4</b> | Marshall S. <i>et. al.</i> Drug<br>Discovery today. Vol.<br>8(5):212-221 | "Rational design and engineering of<br>therapeutic proteins"                                         | Marzo 2003 |

Considera el examinador que la presente invención no cumple con el requisito de nivel inventivo, ya que su juicio la invención se considera obvia en vista de D1-D4.

**RESUELVE**

ARTÍCULO PRIMERO: Denegar la patente de invención a la creación titulada **"COMPOSICIONES ANTI-COCAINA Y TRATAMIENTO"**

**FUNDAMENTOS**

Nos permitimos mostrar nuestro total desacuerdo frente al análisis de nivel inventivo llevado a cabo por la examinadora encargada de la evaluación del presente expediente, al tener en cuenta que dicho análisis fue llevado a cabo mediante un enfoque altamente subjetivo, en donde no se proporcionó el sustento requerido para demostrar cómo el arte previo sugería el desarrollo de las mutaciones puntuales que hacen parte de la presente invención.

Teniendo en cuenta lo anterior, solicitamos de manera respetuosa al señor Examinador la ejecución de un análisis objetivo de la totalidad de argumentos incluidos como parte del presente recurso de reposición.

Como primera medida nos permitimos presentar un nuevo pliego reivindicatorio, en donde se procedió a la eliminación de algunas de las sustituciones inicialmente incluidas como parte de las reivindicaciones 1 y 6, con el fin de cumplir con los requerimientos relacionados con perseguir protección de las mutaciones que evidenciaron un incremento en la termoestabilidad de los polipéptidos CocE. De esta manera, las sustituciones, adiciones y/o deleciones que hacen parte del pliego reivindicatorio generan una termoestabilidad mejorada de la enzima CocE, encontrándose el debido sustento en las páginas 2 (tabla 2), 76 (tabla 7) y 74 (párrafo [0199]) de la correspondiente publicación PCT.

Adicionalmente, se eliminaron las anteriores reivindicaciones 9 y 10, las cuales hacían alusión a porcentajes de identidad de secuencia.

Por tanto, consideramos que la materia revelada por el nuevo pliego reivindicatorio está acorde con las divulgaciones de la descripción, al tener en cuenta que la totalidad de modificaciones listadas sobre la SEQ ID NO. 1 generan polipéptidos CocE con termoestabilidad mejorada a 37°C.

Ahora bien, queremos hacer énfasis en que la presente invención centra la materia revelada en proporcionar péptidos CocE altamente eficientes que se caractericen por una alta termoestabilidad y vida media prolongada con el fin de generar una protección contra los efectos tóxicos y reforzantes de la cocaína, al tener en cuenta que la CocE de tipo silvestre presenta baja termoestabilidad, particularmente a temperaturas mayores a 30°C.

Para dicho fin, el pliego reivindicatorio revela mutantes CocE termoestables diseñados y generados mediante el incremento de la estabilidad termodinámica a través de la disminución del  $\Delta G$  (desdoblado  $\rightarrow$  plegado) del polipéptido CocE, o disminución de la tasa de desdoblamiento a través del incremento de la energía libre de activación del proceso de desdoblamiento de la CocE. De esta manera, el diseño de los mutantes CocE fue llevado a cabo mediante la aplicación de una estrategia de enfoque triple que comprende:

- (i) Diseño racional a través de mutagénesis sitio dirigida computo-guiada (ver Ejemplos 3 y 4),
- (ii) Mutagénesis aleatoria del gen CocE y detección selectiva de alto rendimiento (ver Ejemplos 4 y 15), y
- (iii) Mutagénesis del organismos hospedero CocE seguida de selección genética (ver Ejemplo 14).

en donde, dicho enfoque permitió superar la falencia del arte previo en la generación de enzimas CocE con termoestabilidad incrementada. Así las cosas, la presente solicitud revela sustituciones aminoacídicas novedosas que fueron llevadas a cabo sobre la ya conocida estructura de la enzima CocE silvestre (SEQ ID No. 1) con el fin de obtener una enzima con vida media y termoestabilidad mejoradas.

De esta manera, el desarrollo de la presente invención requirió de una experimentación rigurosa que combina diversos enfoques, la cual permitió la obtención de mutantes específicos que presentan termoestabilidad mejorada a 37°C, y por tanto corresponde a un avance en el arte previo.

Ahora bien, de acuerdo con su Despacho la presente invención es obvia a la luz de las enseñanzas de las referencias D1 y D3, y las referencias D2 y D4. Al respecto, nos permitimos establecer lo siguiente.

Según la examinadora, la referencia **D1 (Bresler et al. 2000 Appl. Environ. Microbiol. 66(3), 904-998)** revela el péptido CocE de SEQ ID No. 1, y por tanto el versado en la materia ya cuenta con información de base para el desarrollo de la presente invención. Al respecto, notamos que dicha referencia centra la materia revelada en el **polipéptido CocE de tipo silvestre**, es decir, en el péptido CocE bien conocido en el arte previo por ser inestable a temperaturas superiores a 30°C, pero es silenciosa frente a la generación de sustituciones, adiciones o deleciones con el fin de mejorar las propiedades fisicoquímicas de dicha enzima.

De esta manera, al leer a profundidad la materia revelada por D1 es posible identificar la secuenciación original del gen CocE de tipo silvestre de *Rhodococcus* MB1 mediante la subclonación de fragmentos de genes en *Rhodococcus erythropolis* CW25, la cual corresponde a un bacteria que no posee la habilidad para metabolizar cocaína, pero que en lugar de esto es capaz de crecer en presencia de éster metílico de ecgonina y benzoato, siendo estos últimos subproductos de la esterasa de cocaína (párrafo 194).

En este orden de ideas, D1 **solo enseña polipéptidos CocE de tipo silvestre (SEQ ID NO:1)**, y por tanto no hace referencia a la generación y/o desarrollo de CocE mutantes que presenten una o más inserciones, deleciones o sustituciones de residuos aminoacídicos con el fin de obtener polipéptidos que conserven la actividad esterasa y sean termoestables a 37°C, mediante la aplicación de la estrategia de enfoque triple previamente expuesta. Por tanto, la información contenida en D1 no implica ningún acercamiento al alcance de la presente invención.

Ahora bien, el documento **D3 (Lehman et al. 2001 Current Opinion in Biotechnology 12, 371-375)** corresponde con una referencia que proporciona una serie de herramientas y reportes **aislados** relacionados con la termoestabilidad de proteínas particulares, dentro de las cuales **NO** se incluyen polipéptidos como CocE u otros que presenten actividad esterasa.

En este sentido, D3 establece que el diseño racional allí revelado puede ser efectivo con proteínas pequeñas que exhiban alta homología y una pronunciada diferencia en termoestabilidad (página 371), pero a su vez refiere la existencia del **problema de "identificar las mutaciones termoestabilizantes relevantes en conjuntos de proteínas más grandes y de menor homología"**.

A partir de esas enseñanzas, y del conocimiento relacionado con que el polipéptido CocE no es similar en tamaño y homología a las proteínas de choque frío de *Bacillus* que ilustran el diseño racional enseñado por D3, consideramos que las metodologías reveladas por D3 no son aplicables al péptido CocE.

Además D3 establece claramente que *"la naturaleza no se basa en una única estrategia para estabilización, (...) una serie de publicaciones en esta área han llegado a conclusiones variables y contradictorias"*, y concluye que es **poco probable** que se brinde información útil para la predicción exacta de mutaciones termoestabilizantes, incluyendo comentarios finales que establecen que los esfuerzos futuros en la materia deben enfocarse en cómo combinar adecuadamente el diseño racional, la evolución directa y los genes sintéticos de consenso, dando solo una idea limitada de dicha posibilidad como una idea general que no asegura la viabilidad en su aplicación.

De esta manera, aun si el normalmente versado en la materia decidiera llevar a cabo mutaciones sobre el péptido CocE con fines de aumentar la termoestabilidad del mismo a la luz de la referencia D3 encontraría en dicha referencia que existe una serie de inconvenientes y problemas asociados con la aplicación de un enfoque tan genérico como el allí revelado, sobre todo cuando se trabaja con proteínas de mayor tamaño tal como la CocE de tipo silvestre (ver página 371, columna 2, líneas 14-37 de D3).

Por tanto, la referencia D3 se encuentra seriamente limitada en sus enseñanzas al no poder afirmar certeramente que el mismo enfoque podría ser necesariamente exitoso con otras proteínas, lo cual se ratifica con la mención de los diferentes inconvenientes asociados con los enfoques descritos dentro de la materia revelada. Es por esto, que consideramos que no puede asegurarse que el normalmente versado en la materia alcanzaría éxito en el aumento de la termoestabilización de CocE mediante la aplicación de los enfoques dados en D3, tal como lo consigue mediante la aplicación de la metodología empleada en la presente invención, por lo que en definitiva el llegar exitosamente a la materia de la presente invención requirió del desarrollo de nivel inventivo.

Más adelante, su Despacho afirma que la referencia **D2 (Larsen et al. 2002 Nature Structural Biology 9(1), 17-21)** se constituye como un punto de partida para determinar la obviedad de la presente invención. Al respecto, notamos que dicha referencia incluye dentro de la materia revelada la estructura cristalográfica de un **polipéptido CocE bacterial de tipo silvestre**, sin incluir información acerca de la vía para generar modificaciones estructurales que permitan la obtención de un polipéptido mutante.

En respuesta a los argumentos dados en el Oficio Técnico No. 13982, incluimos como parte de la respuesta el siguiente fragmento de D2,

*"Dos de los parámetros in vivo más importante que deben abordarse son la toxicidad y la vida media plasmática de la enzima. **Vidas medias plasmáticas cortas serían suficientes para limpiar la cocaína del sistema de un paciente que experimenta una sobredosis, evitando una respuesta inmune adversa humoral y celular.** La vida media plasmática puede ser alargada, si es necesario, por modificaciones covalentes de CocE con poli etilenglicol (PEG), el cual enmascararía la enzima ante el sistema inmune"*

en donde, contrario a lo afirmado por la examinadora, se enseña que contar con una enzima CocE con una baja vida media plasmática es **deseable** para lograr evadir respuestas inmunes adversas, lo cual en definitiva corresponde a una desmotivación para el versado en la materia en cuanto a la generación de técnicas para prolongar la vida media plasmática del polipéptido CocE.

Sumado a lo anterior D2 establece que **si es necesario** la enzima puede pegilarse para extender la vida media plasmática de la misma, mientras que en contraste la presente invención revela que la pegilación de CocE se lleva a cabo con el fin de generar una **mejora de la termoestabilidad, adicional a la conseguida con las mutaciones generadas**.

De esta manera, a la luz de las enseñanzas de la referencia D2 el normalmente versado en la materia tendría poca o nula motivación para el desarrollo de mutantes CocE termoestables que además se caractericen por una vida media plasmática aumentada. Sin embargo, aun si dicho versado en la materia decidiera generar un aumento en la vida media de la enzima CocE, en definitiva optaría por la modificación covalente con PEG, tal como se sugiere en D2, en lugar de explorar mutaciones no sugeridas, tal como se describe en la presente solicitud.

Por tal razón, D2 no brinda una guía tal para que el normalmente versado en la materia pueda realizar **mutaciones puntuales** como las expuestas en la reivindicación 1, que generen un polipéptido termoestable, pues dicho versado no contaría con las herramientas para conocer los residuos críticos que deben ser objeto de modificación, por lo que consideramos que el abordaje de su Despacho no cuenta con el peso requerido para afectar el nivel inventivo de la presente invención.

A pesar de lo anterior, la examinadora concluyó que la referencia D4 brinda las sugerencias requeridas para modificar el polipéptido descrito por D2 y así obtener la materia revelada por la presente invención. Al respecto es posible notar que la referencia **D4 (Marshall et al. 2003 Drug Discovery today 8(5), 212-221)** es similar en contenido a la referencia D3, y por tanto la misma tampoco contempla la viabilidad de llevar a cabo modificaciones estructurales sobre el polipéptido CocE, ni sobre proteínas similares con actividad esterasa.

En este sentido, D4 se centra en brindar diversas técnicas que pueden ser usadas de manera **genérica** para alterar las propiedades fisicoquímicas de las proteínas, siendo silenciosa frente a la viabilidad de la metodología expuesta para la generación de una enzima CocE termoestable como la acá reivindicada. Por tanto, dicha referencia brinda información de carácter general, en donde no se sugieren los residuos específicos que deben ser objeto de mutación para llevar a cabo el desarrollo de una CocE termoestable, y por tanto, no brinda los lineamientos requeridos para que el versado en la materia llegue al objeto de la presente invención sin la aplicación de actividad inventiva.

Así las cosas, ninguna de las referencias D1 a D4 contempla ni sugiere la realización de mutaciones puntuales sobre la CocE de tipo silvestre, con la aplicación de un diseño con estrategia de enfoque triple que consta de (i) diseño racional mediante mutagénesis dirigida al sitio, asistida por computador, (ii) mutagénesis aleatorio del gen CocE y detección selectiva de alto rendimiento, y (iii) mutagénesis del organismo hospedero de CocE, seguida por selección genética, y por tanto podemos concluir que no existe una expectativa de éxito real para la obtención de la presente invención tomando como punto de partida los conocimientos generales de la CocE expuestos por D1 y D2, y los enfoque genéricos de modificación de proteínas dados por D3 y D4.

Es decir, si bien el normalmente versado en la materia podría haber optado por llevar a cabo los procesos genéricos de modificación de proteínas revelados por D3 y D4, es claro que dicha práctica habría constituido incurrir en una experimentación exhaustiva que por obvias razones se habría caracterizado por incurrir en ensayo y error, y por tanto no habría permitido la generación exitosa de la enzima CocE mutante con alta termoestabilidad que es objeto de la presente invención.

En consecuencia, consideramos respetuosamente que su Despacho emitió una apreciación altamente subjetiva, carente del sustento técnico requerido, que no demostró de ninguna manera el debido proceder para la realización de **mutaciones puntuales** sobre la estructura de **574 residuos aminoácídicos** de la CocE de tipo silvestre (SEQ ID No. 1), con el fin obtener un polipéptido con características como las enseñadas por la presente invención.

En otras palabras, consideramos que su Despacho ignoró por completo que la materia esencial revelada por la presente invención corresponde a **todas y cada una de las mutaciones planteadas** (debidamente identificadas), y no solo a la "posibilidad" de generar un mutante CocE termoestable; es decir, consideramos que las conclusiones de la examinadora serían plenamente válidas si la presente invención hiciera referencia genérica a la posibilidad de generar mutantes del polipéptido CocE con fines de aumentar la termoestabilidad de los mismos, pero es claro que el pliego reivindicatorio hace referencia a **mutaciones puntuales**, en los cuales se hace mención de sustituciones, adiciones o deleciones en residuos aminoácídicos específicos las cuales, en definitiva, no se encuentran si quiera sugeridas por el arte previo.

Así las cosas, consideramos pertinente hacer énfasis en que de acuerdo con el Instructivo de Patentabilidad,

*"El examinador no debe basarse en apreciaciones personales, toda objeción referente a falta de nivel inventivo debe probarse con documentos del estado de la técnica"*

*"El examinador debe presentar los documentos relevantes que anulan el nivel inventivo de la invención en estudio y el examen de **cómo las divulgaciones previas inducen** a la persona del oficio normalmente versada en la materia a realizar la invención sin que se hubiese requerido de su parte investigación alguna". (negrilla fuera de texto)*

lo cual en definitiva, no sucedió en el presente caso, pues en las conclusiones emitidas por su Despacho se refleja que el examinador optó por acoger selectivamente las enseñanzas de las referencias D3 y D4 al aceptar los abordajes generales dados por dichas referencias, pero ignorando por completo la mención de las dificultades y problemas relacionados con la aplicación de los mismos a proteínas de mayor tamaño, con el fin de justificar que la presente invención es obvia, pero sin argumentar debidamente cómo dichas referencias sugerían realmente cada una de las mutaciones acá reivindicadas.

Por lo tanto, debido a que su Despacho no sustentó debidamente cómo el normalmente versado en la materia habría obtenido exactamente las sustituciones, adiciones y deleciones que modifican la secuencia de aminoácidos (SEQ ID No. 1) de la CocE con el fin de obtener la presente invención, concluimos que la presente invención no es obvia, y por tanto, cumple a cabalidad con el requisito de nivel inventivo.

Adicional a todo lo anterior, deseamos hacer énfasis en los resultados sorprendentes obtenidos con las mutaciones específicas del péptido reivindicado.

Tal como se puede ver en la tabla 7 de la descripción, el polipéptido reivindicado presentó una estabilidad a 37°C entre **25 y 326 minutos** para unas mutaciones específicas, lo que permite que la enzima reivindicada sea extremadamente útil en el tratamiento por intoxicación de cocaína, así como en el tratamiento de la adicción a la misma debido a su capacidad de **hidrolizar eficientemente la cocaína, exhibiendo al mismo tiempo una termo estabilidad y/o vida media plasmática incrementadas**.

En vista de lo anteriormente expuesto, respetuosamente solicitamos el retiro de las objeciones de la presente solicitud y la concesión del privilegio solicitado, ya que en opinión del solicitante cumple con todos los requisitos establecidos en la decisión 486.

Finalmente, si bien los títulos de patente en un país diferente no son presupuesto necesario para que el mismo sea admitido en Colombia, deseamos resaltar que la oficina estadounidense de Patentes y la oficina mexicana de patentes reconocieron la novedad y el nivel inventivo de la presente invención con base en un pliego reivindicatorio similar en alcance al que es objeto de la solicitud colombiana.

### **PETICIÓN**

Por las razones anteriormente expuestas, solicito a ese despacho **REVOCAR** la decisión tomada mediante la Resolución No. 10572 del 18 de Marzo de 2013 y tendiente a obtener la concesión del Privilegio de Patente de conformidad con los artículos 14 y 48 de la Decisión 486 de la comunidad Andina.

NOTIFICACIONES

Recibiré notificaciones en la Secretaria General de la Superintendencia de Industria y Comercio, o en su defecto, en mi Oficina de Abogado, situada en la Calle 70A No. 4-41 de esta ciudad de Bogotá.

Del Señor Director



**JUAN PABLO CADENA SARMIENTO**

T.P. No. 57.492 del C.S.J.

C.C. 80.410.337 de Usaquén

Calle 70 A No. 4 – 41

## REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido de cocaína esterasa (CocE) mutante aislado que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, que presenta por lo menos una sustitución, adición o delección en donde la por lo menos una sustitución, adición o delección se selecciona del grupo que consiste de V225I; I218L; A310D; A149S; S265A; S56G; S140A; V262L; L508G; Y152H; V160A; T172R; Y532F; T74S; W285T; L146P; D533S; A194R; G173Q; C477T; K531A; R41I; L119A; K46A; F84Y; T172R-G173Q; L169K; F189A; N197K; F189K; Q191K; I175-G-G-A186; y T176-G-G-D185; y el polipéptido mutante CocE tiene actividad esterasa con termoestabilidad incrementada a 37°C comparado con el CocE de tipo silvestre que presenta una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:1.
2. El polipéptido CocE aislado de la reivindicación 1, en donde se sustituyen por lo menos dos residuos de aminoácido.
3. El polipéptido CocE aislado de la reivindicación 2, en donde se sustituyen por lo menos tres residuos de aminoácido.
4. El polipéptido CocE aislado de la reivindicación 3, en donde se sustituyen por lo menos cuatro residuos de aminoácido.
5. El polipéptido CocE aislado de la reivindicación 4, en donde se sustituyen por lo menos cinco residuos de aminoácido.
6. Un polipéptido de cocaína esterasa mutante aislado que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo conformado por SEQ ID NO: 7 (V225I); SEQ ID NO: 8 (I218L); SEQ ID NO: 9 (A310D); SEQ ID NO: 10 (A149S); SEQ ID NO: 12 (S265A); SEQ ID NO: 13 (S56G); SEQ ID NO: 16 (S140A); SEQ ID NO: 21 (V262L); SEQ ID NO: 22 (L508G); SEQ ID NO: 23 (Y152H); SEQ ID NO: 24 (V160A); SEQ ID NO: 25 (T172R); SEQ ID NO: 26 (Y532F); SEQ ID NO: 27 (T74S); SEQ ID NO: 28 (W285T); SEQ ID NO: 29 (L146P); SEQ ID NO: 30 (D533S); SEQ ID NO: 31 (A194R); SEQ ID NO: 32 (G173Q); SEQ ID NO: 33 (C477T); SEQ ID NO: 34 (K531A); SEQ ID NO: 35 (R41I); SEQ ID NO: 36 (L119A); SEQ ID NO: 37 (K46A); SEQ ID NO: 38 (F84Y); SEQ ID NO: 39 (T172R-G173Q); SEQ ID NO: 40 (L169K); SEQ ID NO: 41 (F189A); SEQ ID NO: 42 (N197K); SEQ ID NO: 44 (F189K); y SEQ ID NO: 46 (Q191K), o un fragmento funcional de las mismas.

7. Un ácido nucleico aislado que codifica el polipéptido CocE mutante de cualquiera de las reivindicaciones 1-6.
8. Un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia nucleotídica, que se hibridiza a SEQ ID NO: 2 o al complemento de SEQ ID NO: 2 bajo condiciones de alta restricción, en donde el ácido nucleico aislado codifica un polipéptido CocE mutante que tiene actividad esterasa con termoestabilidad incrementada a 37°C, comparado con CocE tipo silvestre.
9. El polipéptido o ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-8 en donde el aumento en termoestabilidad del polipéptido CocE mutante sobre la CocE tipo silvestre es por lo menos alrededor de 2.1 kcal/mol, por lo menos alrededor de 2.2 kcal/mol, por lo menos alrededor de 2.3 kcal/mol, por lo menos alrededor de 2.4 kcal/mol, por lo menos alrededor de 2.5 kcal/mol, por lo menos alrededor de 2.6 kcal/mol, por lo menos alrededor de 2.7 kcal/mol, por lo menos alrededor de 2.8 kcal/mol, por lo menos alrededor de 2.9 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.0 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.1 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.2 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.3 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.4 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.5 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.6 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.7 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.8 kcal/mol, por lo menos alrededor de 3.9 kcal/mol, por lo menos alrededor de 4.0 kcal/mol, por lo menos alrededor de 4.1 kcal/mol, por lo menos alrededor de 4.2 kcal/mol, por lo menos alrededor de 4.3 kcal/mol, por lo menos alrededor de 4.4 kcal/mol, o por lo menos alrededor de 4.5 kcal/mol.
10. El polipéptido o ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en donde el polipéptido CocE mutante tiene inmunogenicidad reducida, comparado con la CocE tipo silvestre.
11. El polipéptido o ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-10 en donde el polipéptido CocE mutante tiene por lo menos alrededor de 60%, por lo menos alrededor de 65%, por lo menos alrededor de 70%, por lo menos alrededor de 75%, por lo menos alrededor de 80%, por lo menos alrededor de 85%, por lo menos alrededor de 90%, por lo menos alrededor de 95%, por lo menos alrededor de 100%, por lo menos alrededor de 105%, por lo menos alrededor de 110%, por lo menos alrededor de 115%, por lo menos alrededor de 120%, por lo menos alrededor de 125%, por lo menos alrededor de 130%, por lo menos alrededor de 135%, o por lo menos alrededor de 140% de la actividad esterasa del polipéptido CocE tipo silvestre.

12. El polipéptido o ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-10 en donde el polipéptido CocE mutante conserva por lo menos sustancialmente la misma o una mayor eficiencia catalítica del polipéptido CocE tipo silvestre.
13. Una composición farmacéutica que contiene el polipéptido CocE mutante o el polipéptido CocE mutante codificado por el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 1-12 y vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
14. El polipéptido, polipéptido codificado por el ácido nucleico, o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde el polipéptido CocE mutante esta pegilado.
15. El polipéptido, polipéptido codificado por el ácido nucleico, o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde el polipéptido CocE mutante se encapsula en un glóbulo rojo.
16. El polipéptido, polipéptido codificado por el ácido nucleico, o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-15, en donde el polipéptido CocE mutante se estabiliza por un sustrato o inhibidor.
17. Un método de detección selectiva de alto rendimiento para la identificación de polipéptidos CocE mutantes termoestables, que comprende los pasos de:  
  
transformar establemente una célula con un ácido nucleico que codifica un polipéptido CocE mutante;  
  
expresar el polipéptido CocE mutante en la célula;  
  
aislar el polipéptido CocE expresado;  
  
medir la actividad esterasa del polipéptido CocE mutante aislado a una o más temperaturas predeterminadas de por lo menos alrededor de 37°C hasta alrededor de 50°C, para determinar la termoestabilidad de los polipéptidos CocE mutantes aislados;  
  
seleccionar el polipéptido CocE mutante aislado con actividad esterasa a la(s) temperatura(s) predeterminada(s).
18. El método de detección selectiva de alto rendimiento de la reivindicación 17 en donde la medición de la actividad esterasa de los polipéptidos mutantes aislados comprende:

contactar el polipéptido CocE mutante aislado con (i) cocaína y un indicador de pH o (ii) un tio-derivado de cocaína y un indicador de tiol;

detectar un cambio en el indicador de pH o el indicador de tiol; en donde un cambio del indicador de pH o el indicador de tiol se correlaciona con la formación de ácido benzoico de la hidrólisis de cocaína o derivado de cocaína por el polipéptido CocE mutante.

19. El método de detección selectiva de alto rendimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 17-18 que comprende además repetir uno o más pasos del método de detección selectiva por lo menos una vez con una temperatura incrementada para medir la actividad esterasa.
20. El método de detección selectiva de alto rendimiento de la reivindicación 19 en donde un primer ciclo de detección selectiva tiene una primera temperatura para medir la actividad esterasa de alrededor de 37°C, y un ciclo subsiguiente de detección selectiva tiene una temperatura para medir la actividad esterasa de alrededor de 45°C.
21. El método de detección selectiva de alto rendimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 17-20 en donde la expresión del polipéptido CocE mutante ocurre a una temperatura a la cual la CocE tipo silvestre conserva sustancialmente actividad catalítica.
22. El método de detección selectiva de alto rendimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 17-20 en donde la expresión del polipéptido CocE mutante ocurre a una temperatura a la cual el polipéptido CocE de tipo silvestre se divide sustancialmente en cuerpos de inclusión.
23. El polipéptido CocE aislado de la reivindicación 1, en donde la al menos una sustitución, adición o delección se selecciona del grupo que consiste de T172R; F189A/T172R; T172R/A193D; G173Q; T172R/G173Q; T172R/G173Q-I175-G-G-A186; T172R/G173Q-T176-G-G-D185; L169K; y F189K.
24. El polipéptido CocE aislado de la reivindicación 1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 25 (T172R); SEQ ID NO: 32 (G173Q); SEQ ID NO: 39 (T172R-G173Q); SEQ ID NO: 40 (L169K); y SEQ ID NO: 44 (F189K).