مجلة الزراعة العراقية (البحثية) مجلد21 عدد1 ص 170-177 حزيران/2016

الفعالية المضادة لتخثر الدم للسكر المتعدد الكبرتة والمستخلص من الطحلب *Enteromorpha* sp

مازن جميل هندي* خالد حسك عبدالحسن امال كاظم غضبان الاسدي**

الملخص

تم جمع عينات من الطحالب الخضراء من مياه شط العرب ضمن منطقة كرمة علي في محافظة البصرة وبعد التنقية تم تشخيصها وتبين انها تعود الى جنس .*Enteromorpha* sp . جففت وطحنت العينات ثم استخلص السكر المتعدد المكبرت **Sulfated polysaccharides** من الطحلب بالماء الحار في **90**ْ م والترسيب بالايثانول المطلق ثم أجريت الديلزة والتجفيد، وتم تعيين تركيبه الكيميائي إذ بلغت نسبة السكريات الكلية **56.4%** و البروتين **1.3%** والكبريتات **19.7%**. شخصت السكريات الاحادية الموجودة ضمن تركيب هذا البوليمر باستعمال تقنية **HPLC** وقد تبين أن سكر الارابينوز يمثل النسبة الاعلى وهي **81.4%** اما السكريات الاخرى فقد بلغت **8.6%** و**3.7%** و**4.1%** **2.2%** لكل من سكر الرامنوز والكالاكتوز وحامض الكلوكورونيك والمانوز على التوالي. قدر التحلل الحراري الوزني للسكر المتعدد وقد بلغ أقصى تحللاً للسكريات والمواد العضوية في درجة حرارة **260** م وكان الفقد بحدود **55%**. درست الفعالية المضادة لتخثر الدم التي شملت قياس وقت التخثر لجزء الثرموبلاستين **Activated Partial Thromboplastin Time (APTT)**، إذ بلغ **224.21** ثانية عند التركيز **100** ميكروغرام/مل و **221.54** ثانية للهيبارين عند تركيز **1000** وحدة دولية.

المقدمة

استعملت المنتجات الطبيعية كأدوية منذ اوقات قديمة وكانت النباتات المصدر الرئيس لهذه المنتجات بسبب سهولة الحصول عليها ومع تقدم التقانات ركز العلماء بحوثهم حول استعمال المنتجات الطبيعية من البيئة المائية التي تغطي **70%** من سطح الكرة الارضية التي تعد مصدراً هائلاً للمركبات الفعالة وتمثل نصف الانتاج العالمي المجهز لتلك المركبات (**6**). ونتيجة للطلب المتزايد للحصول على اغذية صحية تلائم حاجات المستهلك والابتعاد عن ما هو صناعي ولتجنب الآثار السلبية من استعمال الإضافات الكيميائية دفع مصنعو الاغذية الى الاعتماد على المصادر الطبيعية وخصوصاً البحرية منها لذلك اتجهت الأنظار الى استعمال الطحالب بوصفها احدى البدائل المهمة للتجهيز بالمركبات الفعالة لما تمتاز به من معدل نمو عالي وقيمة اقتصادية وغذائية عالية، فضلاً عن الطحالب في الانظمة البيئية ولانها تمثل غذاءً للأسماك والطيور كما انها تشكل غذاءً مهماً للإنسان وخصوصاً في دول شرق اسيا وبعض الدول الاوربية لانها تمتلك مركبات فعالة كالبروتينات والسكريات والدهون والمركبات الكيميائية النباتية **phytochemical** . وتجهز الطحالب تقريباً **9%** من المركبات الفعالة من البيئة البحري (**7**). ازدياد الاصابة بأمراض القلب وتخثر الدم التي قد تؤدي الى الموت وخصوصاً في السنوات القليلة الماضية قد شغل اهتمام الباحثين

جزء من أطروحة دكتوراه للباحث الثاني.

* كلية الزراعة_ جامعة بغداد_ بغداد_ العراق .

** كلية الزراعة _ جامعة البصرة _ بصرة _ العراق.

تاريخ قبول البحث: آذار / **2015**.

تاريخ تسلم البحث:آب/**2015**.

فكان لابد من استعمال مضادات لتخثر الدم ومنها الهيبارين الذي له بعض الآثار الجانبية مثل التأثير النزفي او الاصابة بأمراض جنون البقر لان مصدر الهيبارين من معدة الخنازير وبعض الماشية، لذا حدد استعمال الهيبارين ببعض المحددات وكان من الضروري البحث عن بدائل للهيبارين او بعض المركبات الكيميائية وأن الامر الذي جذب اهتمام الباحثين هو المحتوى العالي من الكربوهيدرات في الطحالب واستعماله يعد اكثر اماناً في معالجة امراض تخثر الدم وعمله الفعال بوصفه مضاد للأكسدة فضلاً عن اهميته في التصنيع الغذائي لامتلاكه خواص وظيفية (**10**). ونظراً للتوجه العالمي نحو استعمال المنتجات الطبيعية في معالجة العديد من الامراض لذا كان هدف الدراسة هو امكان استعمال السكر المتعدد المستخلص من الطحلب ***Enteromorpha* sp** مضاداً لتخثر الدم.

المواد وطرائق البحث

تم جمع الكميات المطلوبة من الطحلب ***Enteromorpha* sp.** من ضفاف شط العرب في منطقة كرمة علي- البصرة ووضعت في اكياس البولي أثيلين ونقلت الى المختبر في قسم علوم الاغذية – كلية الزراعة – جامعة البصرة وذلك في شهري أذار ونيسان من عام **2013** وتم تشخيصها من قبل د.ازهار الصابونجي قسم الاسماك والثروة البحرية في كلية الزراعة/ جامعة البصرة . بعد الحصول على الطحلب تم الغسل بالماء جيداً وازالة الاحياء العالقة وبقايا النباتات المائية وغيرها من الشوائب ثم غسل بعد ذلك بالماء المقطر مرات عديدة قبل النبذ المركزي . كررت العملية أكثر من مرة لغرض التخلص من الأحياء المجهرية اعتماداً على الطريقة الموصوفة من قبل **Weidman** وجماعته (**20**). جُفِفَ الطحلب هوائياً بعد التنقية بتعريضه إلى أشعة الشمس وخُزنت الكميات المُجففة منه في أكياس من البولي أثيلين بالتجميد (**-18**ْ م) لحين الطحن . بعد ذلك تم طحن العينات المجففة على شكل وجبات بمطحنة كهربائية لغرض الاستخلاص والتحاليل الكيميائية. تم استخلاص السكر المتعدد حسب الطريقة التي ذكرها **Amorim** وجماعته (**1**) وذلك بعمل معلق من مسحوق الطحلب والماء المقطر بنسبة **1.5%(v:w)** في **25**مْ ووضع على المازج المغناطيسي لمدة **15** ساعة أجري النبذ المركزي بسرعة **5000** دورة بالدقيقة لمدة **15** دقيقة في درجة حرارة **4**م ، تم التخلص من الراشح وأخذ الراسب لأستخلاص السكر المتعدد بالماء المقطر الحار(**90**مْ) على المازج المغناطيسي لمدة **45** دقيقة ثم أجري النبذ المركزي بسرعة **5000** دورة بالدقيقة لمدة **15** دقيقة، تم التخلص من الراسب وأخذ الراشح ورسب بالأيثانول المطلق بنسبة **3:1** (كحول:ماء) لمدة **24** ساعة في درجة حرارة **4**°م، ثم أجري النبذ المركزي للتخلص من بقايا الكحول ثم ذوب بالماء المقطر وأجريت له عملية الديلزة باستعمال أكياس الديلزة ذات الحدود الجزيئية بواقع **7000** دالتون ضد الماء المقطر لمدة **24** ساعة في درجة حرارة الغرفة . جفد بعد ذلك بجهاز التجفيد وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال وتم تقدير السكريات الكلية في المستخلص باستعمال طريقة الفينول– حامض الكبريتيك التي ذكرها **Dubois** وجماعته (**5**) . واستعملت طريقة **$BaCl_2$-gelatin** التي ذكرها **Dodgson and Price**(**4**) في تقدير محتوى الكبريت و قدرت البروتينات حسب طريقة **Bradford** (**3**) . شخصت السكريات الاحادية باستعمال جهاز كروماتوكرافي السائل عالي الاداء **HPLC** والذي اجري في وزارة العلوم والتكنولوجيا–بغداد/العراق. كانت أبعاد العمود **9.6** × **50** ملم واحتوى الطور المتحرك على **15** ملي مولاري هيدروكسيد الصوديم مع **1** ملي مولاري خلات الباريوم وكانت سرعة الجريان **1.5**مل/دقيقة في درجة حرارة **40** م.

قدر التحلل الحراري الوزني باستعمال جهاز **TGA Q50 V20.13 Build 39** في قسم الكيمياء /كلية العلوم/جامعة البصرة وحسب الطريقة المذكورة من قبل **Skoog** وجماعته(**18**). تمت دراسة الفعالية المضادة لتخثر الدم من خلال تقويم وقت التخثر لجزء الثرموبلاستين(**APTT**) حسب الطريقة التي ذكرها **Mourao**

وجماعته(12). تم الحصول على عينات الدم من الوحدة الصحية في جامعة البصرة ووضعت في انابيب حاوية على سترات الصوديوم وأجري لها نبذ مركزي بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة خمس دقائق وتم الحصول على بلازما الدم. أخذ 90 ميكرولتر من عينة البلازما وأضيفت الى 10 ميكرولتر من عينة السكر المتعدد المكبرت المستخلص من الطحلب قيد الدراسة وبتركيز 12.5 ، 25،50،100 ميكروغرام/مل ثم أضيف 100 ميكرولتر من كاشف (APTT)، خلط جيداً ثم حضن في درجة حرارة 37 م لمدة ثلاث دقائق بعد ذلك أضيف 100 ميكرولتر من محلول 0.025 مولاري كلوريد الكالسيوم ثم قيس وقت التخثر باستعمال ساعة توقيت.

النتائج والمناقشة

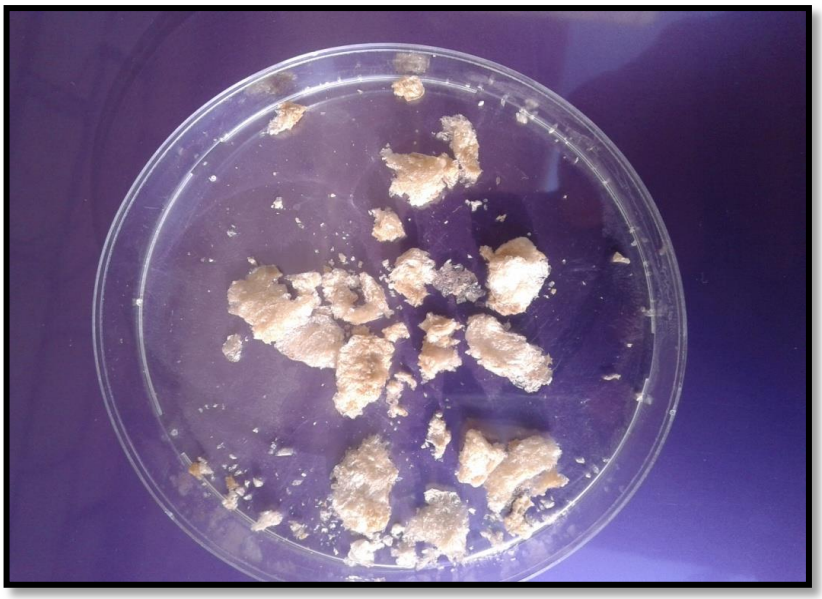
المحتوى الكيميائي للسكر المتعدد

يبين جدول 1 بعض مكونات السكر المتعدد المستخلص بالماء في درجة 90 °م والمرسب بالإيثانول المطلق بنسبة 1:3 من الطحلب .*Enteromorpha* sp، إذ لوحظ أن نسبة السكريات الكلية والكبريتات والبروتين على اساس الوزن الجاف بلغت 56.4% و19.7% و1.3 % على التوالي . أن هذه المكونات كانت مقاربة لما حصل عليه Siddhanta وجماعته (17) عند استخلاصهم للسكر المتعدد من الطحلب الأخضر *Ulva faciata* بالماء الحار إذ تراوحت القيم 47.3–52% وبين 18.3–21.8% و1–2.65% على التوالي وبالماء البارد بين (40.9–53.1) % و بين (13.7–18.9) % و(6.8– 11.8) % على التوالي عند جمع الطحلب في اوقات مختلفة من السنة .

جدول 1: التركيب الكيميائي للسكر المتعدد المستخلص من الطحلب *Enteromorpha* sp

المكونات	%
السكريات الكلية	56.4
الكبريتات	19.7
البروتين	1.3

جاءت النتائج ايضاً مقاربة مع السكر المتعدد المستخلص من الطحلب *E.prolifera* بالماء الحار إذ كانت نسبة السكريات المتعددة والكبريتات والبروتين 52.8% و21.9 %و1.04% على التوالي (8) ، بينما وجد Souza وجماعته(19) عند استخلاصهم للسكر المتعدد من احد أنواع الطحالب الحمراء *Gracilaria birdiae* بالماء الحار (90° م) أن نسبة السكريات الكلية والبروتينات كانت أعلى بواقع 85.6% و2.5% على التوالي بينما كانت نسبة الكبريتات اقل بواقع 8.4% في حين وجد Seedevi وجماعته(16) عند استخلاص السكر المتعدد من الطحلب البني *Codium tementosum* أن نسبة السكريات الكلية بلغت 88.7% والكبريتات 14.7% بينما كان خالياً من البروتينات. يعود هذا التباين في نسب مكونات السكر المتعدد إلى نوع الطحلب وتباين تراكيبها الكيميائية وبالتالي محتواه العالي من الكاربوهيدرات إضافة إلى موسم حصاد الطحالب وطريقة الاستخلاص المتبعة. ويوضح الشكل (1) السكر المتعدد المجفد المحضر من الطحلب *Enteromorpha* والذي يظهر على شكل الياف بيضاء مائلة للاصفرار قليلاً .



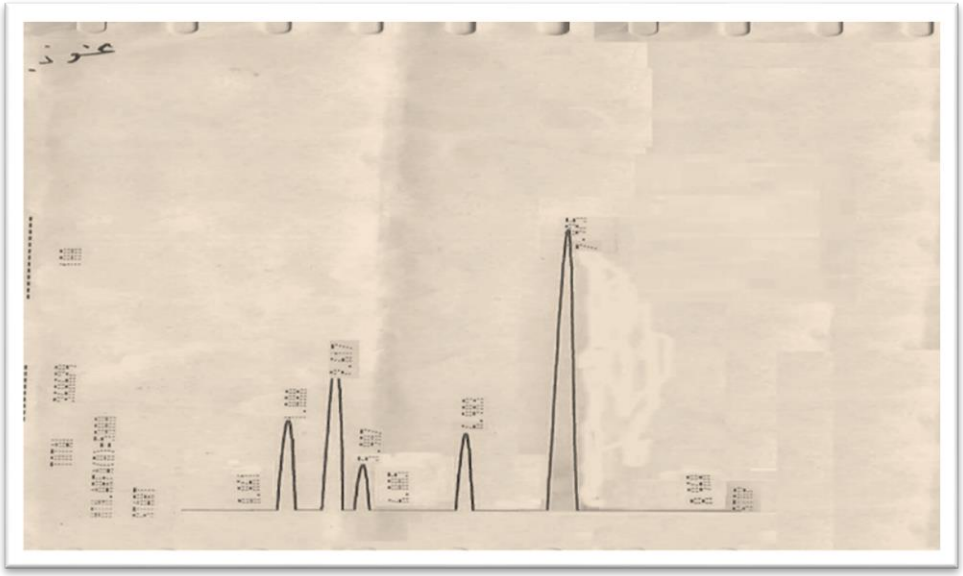
شكل1: السكر المتعدد المكبرت المجفد المعزول من الطحلب ***Enteromorpha***

محتوى السكريات الاحادية

يوضح الجدول2 والشكل 2 تركيب السكر المتعدد المستخلص من الطحلب ***Enteromorpha*** باستعمال جهاز كروماتوكرافيا السائل عالي الاداء (HPLC)، إذ يلاحظ من الجدول أن سكر الأرابينوز أكثر السكريات وجوداً في السكر المتعدد إذ فبلغت نسبته **81.4**% يليه سكر الرامنوز بواقع **8.6**% ثم حامض الكلوكورونيك بنسبة **4.1** % و**3.7**% لسكر الكالاكتوز والنسبة الأقل لسكر المانوز، إذ بلغت **2.2**% . توافقت النتائج مع بعض ما توصل اليه Qi وجماعته(13) لماذا وجد أربعة أنواع من السكريات الاحادية في السكر المتعدد المكبرت للطحلب ***Enteromorpha clathrata*** هي الأرابينوز والرامنوز والكالاكتوز وحامض الكلوكورونيك إذ بلغت **80.5**%و**10.7**% و**4.8**%و**4** % على التوالي، بينما وجد Qi وجماعته(14) سكر الرامنوز بكمية عالية وكمية أقل للسكريات حامض الكلوكورونيك وسكر الزايلوز ثم سكر الكالاكتوز وعدم وجود سكر الأرابينوز في السكر المتعدد للطحلب ***Enteromorpha linza*** ، في حين وجد Mao وجماعته(9) عند استخلاصهم للسكر المتعدد من الطحلب الاخضر ***Ulva conglobata*** ستة أنواع من السكريات الاحادية إذ كان لسكر الرامنوز النسبة الأعلى بواقع **71.9**% .

جدول2: محتوى السكريات الاحادية للسكر المتعدد المستخلص من الطحلب ***Enteromorpha* sp**

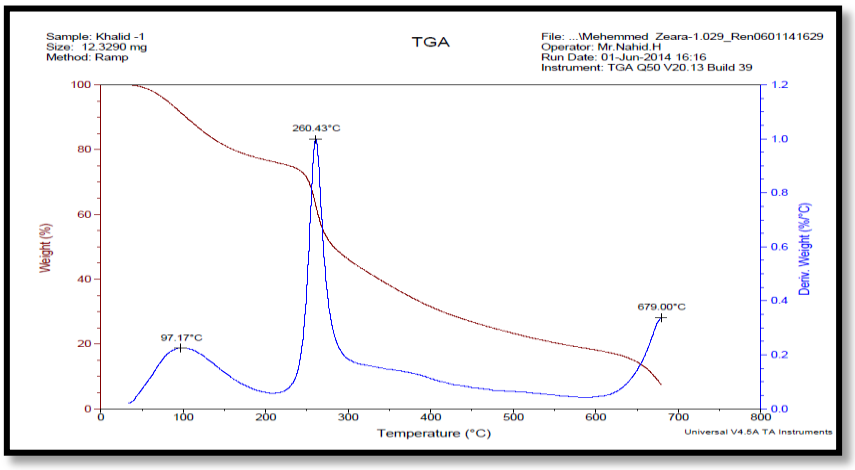
السكريات الاحادية	%
Arabinose	81.4
Rhamnose	8.6
Galactose	3.7
Glucuronic acid	4.1
Mannose	2.2



شكل2: تشخيص السكريات الاحادية للسكر المتعدد المستخلص من الطحلب ***Enteromorpha* sp** باستعمال تقنية **HPLC**

التحلل الحراري الوزني

يبين شكل **3** منحنى التحلل الوزني الحراري للسكر المتعدد المكبرت المعزول من الطحلب الأخضر ***Enteromorpha* sp**، إذ يلاحظ وجود ثلاث مراحل يمر بها السكر المتعدد المرحلة الاولى بدأت من **30–190**ْ م في هذه المرحلة تحصل خسارة في الوزن نتيجة تبخر الماء الموجود في العينة وكان أعلى فقداً في هذه المرحلة في درجة حرارة **97.17** م تقريباً **7%** وفي نهاية هذه المرحلة كان الفقد في الوزن تقريباً **25%** بعد ذلك بدأت المرحلة الثانية بين **220–520**ْ م وفيها تم تحلل كامل للسكريات والمواد العضوية إذ كان الفقد في الوزن بحدود **55%** وكانت أعلى قيمة للتحلل في درجة حرارة **260.43** م بعدها بدأت المرحلة الثالثة في درجة حرارة تراوحت بين **520–700** م وأعلى قيمة للتحلل في هذه المرحلة كانت في درجة حرارة **679** م والمتبقي في هذه المرحلة الرماد وكان تقريباً **9%**.

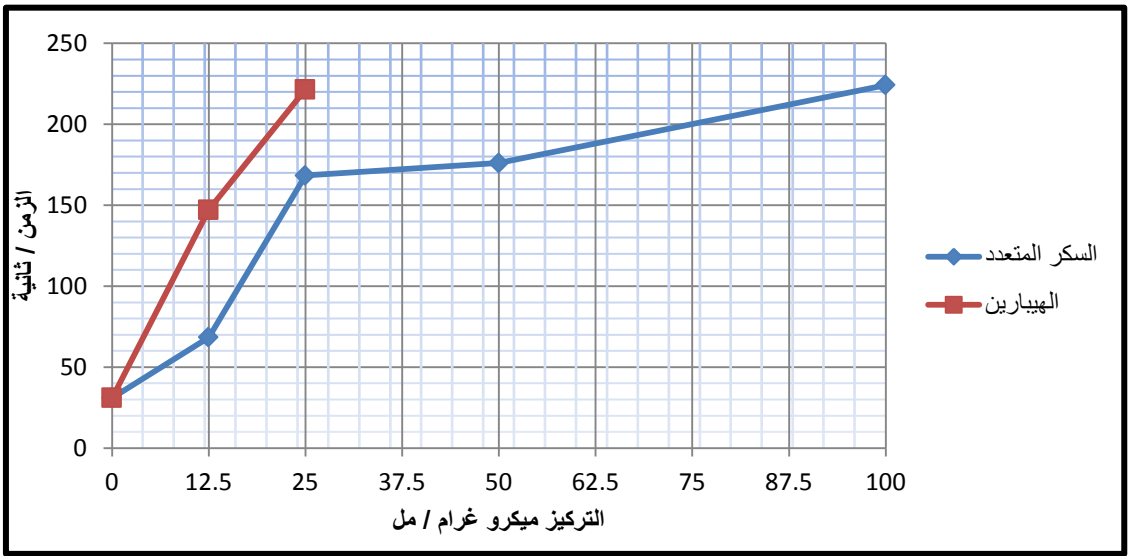


شكل **3**: منحى التحلل الحراري الوزني للسكر المتعدد المكبرت المعزول من الطحلب ***Enteromorpha* sp**

وعلى ضوء النتائج المستحصلة لفقدان الرطوبة في أمكان إضافة السكر المتعدد في النظام الغذائي وتحمله المعاملة الحرارية دون تحلل وهذه مفيدة في موضوع التحمل الحراري للأغذية المختلفة لدى معاملتها حراريا .

الفعالية المضادة للتخثر

يبين الشكل(4) النشاط المضاد للتخثر للسكر المتعدد المكبرت المعزول من الطحلب ***Enteromorpha*** بطريقة قياس وقت التخثر لجزء الثرموبلاستين **(APTT)** بالمقارنة مع الهيبارين وكان النشاط المضاد للتخثر إزداد بشكل واضح بزيادة التركيز إذ بلغ **224.21** ثانية عند التركيز **100** ميكروغرام/مل وكان مقاربا للهيبارين عند التركيز**1000 IU** /مل إذ بلغ **221.54** ثانية .



شكل 4: زمن التخثر لجزئ الثرموبلاستين **APTT** للسكر المتعدد المكبرت المعزول من الطحلب ***Enteromorpha* sp** بالمقارنة مع الهيبارين

وأكد ذلك **Matsubara** وجماعته (**10**) في دراسته الفعالية المضادة للتخثر للسكر المتعدد المكبرت المحضر من الطحلب الأخضر ***Codium cylindricum*** عدم وجود فعالية مضادة للتخثر في فحص البروثرومبين بينما وجد نشاط مضاد للتخثر في فحص جزء الثرموبلاستين **(APTT)**، إذ بلغ **300** ثانية ، كما بين **Rodrigues** وجماعته(**15**) وجود نشاط مضاد للتخثر للسكر المتعدد المكبرت المحضر من الطحلب الاحمر ***Caulerpa cupressoides*** إذ بلغ وقت التخثر لجزء الثرموبلاستين **(APTT) 223.02** ثأنية عند التركيز **1** ملغم/مل . وجد ايضاً **Qi** وجماعته (**13**) نشاطاً مضاداً للتخثر للسكر المتعدد المكبرت المستخلص من الطحلب ***Enteromorpha clathrata*** إذ بلغ زمن التخثر لجزء الثرموبلاستين **200** ثأنية عند التركيز **50** ميكروغرام/مل وكان مقارباً عند المقارنة بالهيبارين عند التركيز **20** مايكروغرام/مل. تعتمد قابلية السكر المتعدد المكبرت في منع التخثر على عوامل عدة وهي طبيعة التركيب الكيميائي للسكر المتعدد ومحتوى السكريات ونوعها فضلا عن مجاميع الكبريت المرتبطة بالسكريات ونسبها (**11**). ان ألية عمل السكر المكبرت في منع التخثر يتم عن طريق التأثير المباشر في الثرومبين بواسطة تحفيز مضاد الثرومبين **anti-thrombin (AC-111)** أي يعمل على منع تحول البروثرومبين الى ثرومبين ويمنع تحول الفيبرين الى فيبرينوجين وثم يمنع تخثر الدم (**2**).

المصادر

1- **Amorim, R.C.; J.A. Rodrigues; M.L. Holanda; P.A. Mourão and N.M. Benevides (2011). Anticoagulant properties of a crude sulfated polysaccharide from the red marine alga *Halymenia floresia* (Clemente) C. Agardh. Acta Scien Biol Scien.; 33(3): 255-261.**

2- **Atha, D.H.; A.W. Stephens and R.D. Rosenberg (1984). Proc. National Academy of Science, USA. , 81:1030-1034.**

3- **Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.**

4- **Dodgson, K.S. and R.G. Price. (1962). A note on the determination of the ester sulfate content of sulfated polysaccharides. Biochem. J., 84: 106-110.**

5- **Dubois, M.; K.A. Gillis; J.K. Hamilton; P. A. Rebers and F. Smith (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28: 350-356.**

6- **Hanson, J. R. (2003). Secondary metabolites. Natural Products (pp. 1-3). UK: The Royal Society of Chemistry.**

7- **Jirge, S. S. and Y.S. Chaudhari (2010). The Ultimate Source of Bioactives and drug Metabolites, International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy, 1(1): 55-62.**

8- **Li, H.; W. Mao; X. Zhang; X. Qi and Y. Chen. (2011). Structural characterization of an anticoagulant-active sulfated polysaccharide isolated from green alga *Monostroma latissimum*. Carbohydrate Polym ., 85:394-400.**

9- **Mao, W.; X. Zang ; Y. Li and H. Zhang. (2006) Sulfated polysaccharides from marine green algae *Ulva conglobata* and their anticoagulant activity. J. Appl. Phycol. 18, 9–14.**

10- **Matsubara, K.; Y. Matsubara ; A. Basic ; M. L. Liao and K. Hori (2001). Anticoagulant properties of a sulfated galactan preparation from a marine green alga *Codium cylindricum*. Inter. J. Biol. Macromol. 28: 395-399.**

11- **Melo, F.R.; M.S. Fogue and P.A. Mourao. (2004). Antithrombin mediated anticoagulant activity of sulfated polysaccharides. J. Biol. Chem., 279:20824-20835.**

12- **Mourâo, P.A. ; M. S. Pereira; M.S. Pavâo ; B. Mulloy ; D.M. Tollefsen and M. C. Mowinckel (1996). Structure and anticoagulant activity of a fucosylated chondroitin sulfate from echinoderm: Sulfated fucose branches on the polysaccharide account for its high anticoagulant action. The J.of Biological Chem., 271: 23973–23984.**

13- **Qi, X. ; W. Mao; Y. Gaob; Y. Chen; C. Zhao; N. Li; C. Wang; M. Yan; C. Lina and J. Shana (2012). Chemical characteristic of an anticoagulant-active sulfated polysaccharide from *Enteromorpha clathrata*. J.Carbohydrate Poly., 90 : 1804– 1810.**

14- **Qi, X.; W. Mao ; Y. Chen ; Y. Chen ; C. Zhao ; N. Li and C. Wang (2013).Chemical characteristics and anticoagulant activities of two sulfated polysaccharides from *Enteromorpha linza* (Chlorophyta). J. Ocean Univ. China., (12):175–182.**

15- Rodrigues, J ; E. Vanderlei ; E. Bessa ; F. Magalhaes ; R. Paula ; V. Lima and N. Benevides (2011). Anticoagulant activity of a sulfated polysaccharide isolated from the green seaweed *Caulerpa cupressoides*. Braz. Arch. Biol. Technol., 54 (4):691-700.

16- Seedevi, P. ; S. Sudharsan; V. S. Kumar ; A. Srinivasan ; S. Vairamani, and A. Shanmugam (2013). Isolation and characterization of sulphated polysaccharides from *Codium tomentosum* (J. Stackhouse, 1797) collected from southeast coast of India. Adv. Appl. Sci. Res., 4(5): 72-77.

17- Siddhanta, A.K.; B.K. Goswami ; K.H. Ramavat and O.P. Mody (2001). Water soluble polysaccharides of marine algal species of *Ulva* (Ulvales, Chlorophyta) of Indian waters. Indian Journal of Marine Sciences., 30: 166-172.

18- Skoog, A.D.; F.J. Holler and R. C. Stanley (2010).Instrumental analysis. 8th ed. New Delhi: Cengage Learing India Private Limited., p. 488: 978-986.

19- Souza, B.W.; M.A. Cerqueira; A.I. Bourbon; A.C. Pinheiro; J.T. Martins and J.A. Teixeira (2012). Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccha-ride from the red seaweed *Gracilaria birdiae*. Food Hydrocoll., 27: 287-292.

20- Weidman, V. E.; P. R. Walne and F. R. Tainor (1984). A new technique for obtaining axinic cultures of algae. Can. J. Bot., 42: 958-959.

ANTICOAGULATION ACTIVITY OF SULFATED POLYSACCHARIDE EXTRACTEDFROM GREEN ALGAE *Enteromorpha* sp

M.J. Hindi* K. H. Abdulhasan A. K. Ghadban****

ABSTRACT

Samples of the green algae were collected from water of Shatt al-Arab in Garmat Ali, Basra. After purification, the green algae were identified to be *Enteromorpha* sp. The samples were dried and milled,the sulfated polysaccharides were extracted with hot water at 90°C, precipitated with absolute ethanol, dialysed and lyophilized. The chemical composition was total sugars 56.4%, protein 1.3% and sulfur 19.7%. The monosaccharides existed in the polymer by HPLC,Arabinose comprised the highest valued of 81.4%, other sugers were 8.6% Rhamnose, 3.7% Galactose, 4.1% glucouronic acid and 2.2% Mannose. Thermo gravimetric analysis (TGA) for Polysaccharide was assayed, the maximam of both sugers and organic material was at 260°C with 55% loss in weight. The anticoagulation activity of blood was studied and included Activated partial Throbomoplastin time (APTT) wich was 224.21 seconds at 100µgm\ml compared to 221.54 seconds for heparin at concentration of 1000IU.

Part of Ph.D.Thesis of the second author.

*** College of Agric.-Baghdad Univ.- Baghdad, Iraq.**

**** College of Agric.-Basra Univ. Basra, Iraq.**