

УДК 615.322:615.281.9:615.282

<https://doi.org/10.24959/ubphj.20.265>

А. А. Куцанян¹, Н. В. Попова¹, М. А. Комісаренко¹, Т. П. Осолодченко²,
В. І. Литвиненко³

¹ Національний фармацевтичний університет, Україна

² Державна установа «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова
НАМН України», Україна

³ Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів
та медичної продукції», Україна

Вивчення антимікробної активності екстрактів плодів абрикоса звичайного

Актуальність. На теперішній час однією з актуальних проблем у фармації і медицині є лікування інфекційних захворювань. Спектр антимікробних засобів, які використовуються для боротьби з патогенними мікроорганізмами, у зв'язку з розвинутою проблемою резистентності до антибіотиків неухильно звужується. Тому пошук нових лікарських засобів, що мають антибактеріальну активність, є важливим завданням.

Мета роботи. Провести вивчення антимікробної активності екстрактів із сухих плодів абрикоса звичайного.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були сухі плоди абрикоса звичайного. Антибактеріальну та протигрибкову активність фракцій визначали в досліді *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів»).

Результати та їх обговорення. Вміст сухих речовин варіюється від 2,47 до 7,30 % для спиртових екстрактів у нейтральному середовищі і від 3,78 до 8,03 % – у підкисленому середовищі. При екстракції хлористим метиленом вміст сухих речовин значно менше. Дані результатів дослідження екстрактів на антимікробну активність показали, що всі штами мікроорганізмів чутливі до досліджуваних зразків.

Висновки. Всі досліджувані зразки проявляють антимікробну активність по відношенню до використаних штамів мікроорганізмів. Більшість спиртових екстрактів, отриманих при підкисленні, проявляє більшу інгібуючу активність, ніж нейтральні зразки.

Ключові слова: абрикос звичайний; екстракт сухих плодів; антимікробна активність

A. Kutsanyan¹, N. Popova¹, M. Komissarenko¹, T. Osolodchenko², V. Litvinenko³

¹ National University of Pharmacy, Ukraine

² Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the NAMS of Ukraine, Ukraine

³ State Enterprise "State Scientific Center for Drugs and Medicinal Products", Ukraine

Study of antimicrobial activity of apricot fruits extracts

Topicality. Today, treatment of infectious diseases is considered to be one of the actual problems in pharmacy and medicine. The spectrum of antimicrobial agents used to fight pathogens, due to the developed problem of antibiotic resistance, is steadily narrowing. Therefore, finding new drugs with antibacterial and antifungal activity is an important task.

Aim. To study the antimicrobial activity of *Armeniaca vulgaris* dried fruit extracts.

Materials and methods. The object of the study were *Armeniaca vulgaris* dried fruits. The antibacterial and antifungal activity of the extracts was determined *in vitro* experiments by diffusion into agar ("wells" method).

Results and discussion. The extractable matters content ranges from 2.47 to 7.30 % for alcohol extracts in neutral medium and from 3.78 to 8.03 % in acidified medium. When extracted with methylene chloride, the extractable matters content is much lower. The results of the study of extracts for antimicrobial activity showed that all microorganisms strains are sensitive to the samples.

Conclusions. All samples tested have antimicrobial activity against the microorganisms strains used. Most alcoholic extracts obtained by acidification exhibit higher inhibitory activity than neutral samples.

Key words: *Armeniaca vulgaris*; dried fruit extracts; antimicrobial activity

А. А. Куцанян¹, Н. В. Попова¹, Н. А. Комиссаренко¹, Т. П. Осолодченко², В. И. Литвиненко³

¹ Национальный фармацевтический университет, Украина

² Государственное учреждение «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова
НАМН Украины», Украина

³ Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств
и медицинской продукции», Украина

Изучение антимикробной активности экстрактов плодов абрикоса обыкновенного

Актуальность. На сегодня одной из актуальных проблем в фармации и медицине является лечение инфекционных заболеваний. Спектр антимикробных средств, применяемых для борьбы с патогенными микроорганизмами, в связи с развившейся проблемой антибиотикорезистентности неуклонно сужается. Поэтому поиск новых лекарственных средств, обладающих антибактериальной и противогрибковой активностью, является важной задачей.

Цель работы. Провести изучение антимикробной активности экстрактов из сухих плодов абрикоса обыкновенного.

Материалы и методы. Объектом исследования были сухие плоды абрикоса обыкновенного. Антибактериальную и противогрибковую активность фракций определяли в опытах *in vitro* методом диффузии в агар (метод «колодцев»).

Результаты и их обсуждение. Содержание сухих веществ варьируется от 2,47 до 7,30 % для спиртовых экстрактов в нейтральной среде и от 3,78 до 8,03 % – в подкисленной среде. При экстракции хлористым метилом содержание сухих веществ значительно меньше. Данные результатов исследования экстрактов на антимикробную активность показали, что все штаммы микроорганизмов чувствительны к исследуемым образцам.

Выводы. Все исследуемые образцы проявляют антимикробную активность по отношению к использованным штаммам микроорганизмов. Большинство спиртовых экстрактов, полученных при подкислении, проявляет большую ингибирующую активность, чем нейтральные образцы.

Ключевые слова: абрикос обыкновенный; экстракт сухих плодов; антимикробная активность

ВСТУП

На теперішній час велика увага приділяється вивченню лікарських рослин. Це в більшій мірі пов'язано з їх доступністю і досить низькою токсичністю для організму. Одним з перспективних видів є представник родини *Rosaceae* Абрикос звичайний (*Armeniaca vulgaris* L.). Ця рослина широко культивується в Україні, Східній Азії, на Кавказі і в більшості країн з теплим кліматом, крім екваторіальних. Відомо 10 видів цієї рослини, в країнах СНД – 6. Сам вид *A. vulgaris* налічує понад 600 сортів [1].

Абрикос широко застосовується в багатьох сферах. У харчовій галузі свіжі фрукти вживають в їжу, з них виготовляють варення, компоти, сухофрукти. У народній медицині використовують як джерело мікроелементів при захворюваннях серцево-судинної системи. У косметології абрикос застосовується у складі різних кремів, масок, шампунів, олій. В ароматології широке застосування знайшла олія абрикосова разом з персиковою. Також відомо, що свіжі плоди використовуються при анемії, гіпо- та авітамінозі, серцево-судинних захворюваннях, при захворюваннях шкіри, слизової оболонки порожнини рота і трофічних виразках. Абрикосова камедь володіє емульгуючими та обволаючими властивостями, в зв'язку з чим застосовується у фармацевтичній практиці. Насіння використовують як у свіжому, так і в сушеному вигляді, а також для отримання олії. У китайській медицині воно застосовується як заспокійливий засіб при кашлі та гикавці. Листя абрикоса володіє антимікробною, антиоксидантною і сечогінною активністю. Абрикосовий сік виводить токсини і знижує рівень холестерину в крові, відновлює функцію печінки і нірок [1, 2].

Таке різноманіття фармакологічних ефектів забезпечує хімічний склад абрикоса. У плодах міститься велика кількість полісахаридів, органічних кислот, пектинів, а також різних вітамінів, фенольних сполук і флавоноїдів. Насіння в своєму складі має безліч амінокислот, глікозид амігдалін, жирну невисихаючу олію. У камеді містяться різні моно- і полісахариди, уранові кислоти. До складу листя входять вітаміни, фенолкарбонові кислоти, флавоноїди, хлорофіл [1,3].

На теперішній час однією з актуальних проблем у фармації і медицині є лікування інфекційних захворювань. Спектр антимікробних засобів, які використовуються для боротьби з патогенними мікроорганізмами, у зв'язку з розвинутою проблемою рези-

стентності до антибіотиків неухильно зростає. Тому пошук нових лікарських засобів, що мають антибактеріальну і протигрибкову активність, є важливим завданням. Актуальним є отримання препаратів рослинного походження, які на відміну від синтетичних хіміотерапевтичних засобів у більшості випадків мають меншу токсичність і є більш універсальними.

Мета дослідження – провести вивчення антимікробної активності екстрактів із сухих плодів абрикоса звичайного.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження були сухі плоди абрикоса звичайного сорту Єревані (Шалах), заготовленого в 2018 р., висушеного і приведенного до стандартного виду [4]. Перед використанням плоди були висушені за допомогою ІЧ-випромінювання і подрібнені методом вальцювання до розміру часток 1-2 мм. Екстракцію проводили в співвідношенні 1 : 10 впродовж 3-х діб 10, 30, 50, 70 і 96 % спиртом етиловим та хлористим метилом, а також цими ж розчинниками, підкисленими 10 % кислотою хлористоводневою до рН 2-3. Визначення екстрактивних речовин у зразках проводили відповідно до ДФУ [5]. Отримані екстракти фільтрували, концентрували в 2 рази та використовували для вивчення антимікробної активності. Для мікробіологічних досліджень отримані екстракти використовували у вигляді 5 % спиртових розчинів.

Вивчення антибактеріальної та протигрибкової активності проводили на базі ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України». Оцінку активності досліджуваних фракцій проводили на стандартних штаммах мікроорганізмів, регламентованих МОЗ для вивчення антимікробної дії препаратів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 653/885.

Антибактеріальну та протигрибкову активність фракцій визначали в досліді *in vitro* методом дифузії в агар (методом «колодязів»). Метод заснований на здатності активних речовин дифундувати в попередньо засіяне тест-культурою агарне середовище.

Приготування мікробної суспензії мікроорганізмів проводили з використанням приладу Densi-La-Meter (виробництво PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Суспензію готували згідно з інструкцією, що додається до приладу, та інформаційного

Таблиця 1

ХАРАКТЕРИСТИКА ЕКСТРАКТІВ ПЛОДІВ АБРИКОСА

Екстрагент	Вміст сухих речовин, %	Екстрагент	Вміст сухих речовин, %
10 % етанол	6,65	10 % етанол + 10 % HCl	7,06
30 % етанол	7,30	30 % етанол + 10 % HCl	7,46
50 % етанол	7,03	50 % етанол + 10 % HCl	8,03
70 % етанол	6,46	70 % етанол + 10 % HCl	7,48
96 % етанол	2,47	96 % етанол + 10 % HCl	3,78
Хлористий метилен	1,04	Хлористий метилен + HCl 10 %	0,23

листа про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 «Стандартизація приготування мікробних суспензій», (м. Київ). Синхронізацію культур проводили з використанням низьких температур (4 °C). Мікробне навантаження становило 107 мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалося за стандартом McFarland. У роботу брали 18-24 годинну культуру мікроорганізмів. Для досліджень використовували агар Мюллера-Хінтона. Для *Candida albicans* використовували агар Сабуро [6].

Визначення активності досліджуваних фітопрепаратів проводили на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі. У нижньому шарі використовували «голодні» не засіяні середовища (агар-агар, вода, солі). Нижній шар утворювала підкладка з 10 мл «голодного агару», на яку горизонтально встановлювали 3-6 тонкостінних циліндри з нержавіючої сталі діаметром 8 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складається з поживного агаризованого середовища, розплавленого та охолодженого до 4 °C, в який вносили відповідний стандарт добової культури тестового мікроорганізму. Після застигання циліндри стерильним пінцетом вилучали, а в утворені лунки поміщали досліджувані зразки з урахуванням їх обсягу (0,3 мл). Чашки сушили впродовж 30-40 хв при кімнатній температурі і ставили в термостат на 18-24 год [6].

Для оцінки антибактеріальної активності препаратів використовували такі категорії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказують на те, що мікроорганізм не чутливий до внесеного в лунку препарату;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказують на низьку чутливість культури в досліджуваній концентрації антибактеріальної речовини;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінюються як показник чутливості мікроорганізмів до досліджуваного препарату;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваних препаратів [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У ході дослідження було отримано 12 екстрактів, а характеристика отриманих екстрактів із сухих плодів абрикоса наведена в табл. 1.

Результати показують, що вміст сухих речовин варіюється від 2,47 до 7,30 % для спиртових екстрактів у нейтральному середовищі і від 3,78 до 8,03 % – у підкисленому середовищі. При екстракції хлористим метиленом вміст сухих речовин значно менше. Також слід зазначити, що кількість екстрактивних речовин збільшується при підкисленні спиртових екстрактів. У випадку з хлористим метиленом навпаки – їх кількість зменшується з додаванням 10 % кислоти хлористоводневої.

Дані результатів дослідження екстрактів на антимікробну активність показали, що всі штами мікроорганізмів чутливі до досліджуваних зразків (табл. 2).

Встановлено, що *S. aureus* найбільш чутливий до 50 і 70 % спиртових екстрактів. При цьому варто відзначити, що витяжки, отримані при підкисленні середовища, проявили більшу активність, діаметр затримки росту склав 22 мм, в той час як у екстрактів, отриманих у нейтральному середовищі, цей показник склав 21 мм. Щодо *E. coli* і *P. Vulgaris*, то високу інгібуючу активність проявили спиртові екстракти в низьких концентраціях (10, 30, 50). *E. coli* виявилася найбільш чутливою до 10 і 30 % спиртових екстрактів як з додаванням HCl, так і без цього та до 50 % в кислому середовищі (затримка росту – 25 мм). *P. vulgaris* виявився високочутливим до 30 % спиртового екстракту в нейтральному середовищі (діаметр затримки – 24-25 мм) і в кислому середовищі (діаметр затримки – 26-27 мм). Найбільшу затримку росту по відношенню до *P. aeruginosa* проявили спиртові екстракти високих концентрацій (70 і 96 %), а також підкислені 30 і 50 % зразки. Високочутливим до всіх спиртових екстрактів виявився штам *B. subtilis*, зона затримки росту якого становила від 25 до 31 мм у залежності від концентрації екстрагенту і pH середовища. Антимікотична активність більш виражена у спиртових екстрактів, а у випадку з 10, 30, 50 і 70 % витяжками зразки з додаванням HCl проявляють більшу інгібуючу дію (затримка росту збільшується від 2 до 4,5 мм).

Результати досліджень показують, що отримання екстрактів із сухих плодів абрикоса з метою використання їх в якості антимікробних агентів є досить перспективним. Більшість спиртових екстрактів, отриманих при підкисленні, проявляє більш виражену інгібуючу активність, ніж екстракти, отримані в нейтральному середовищі.

Таблиця 2

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ ІЗ СУХИХ ПЛОДІВ АБРИКОСА

Зразки	Діаметри зон затримки росту у мм, кількість повторів досліду n = 3					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC653/885
10 % спиртовий екстракт	18, 19, 19	24, 25, 23	20, 21, 21	20, 20, 19	27, 27, 26	20, 20, 21
30 % спиртовий екстракт	16, 16, 17	25, 25, 26	24, 24, 25	18, 19, 18	30, 30, 31	20, 21, 20
50 % спиртовий екстракт	20, 21, 21	20, 22, 20	24, 23, 24	20, 19, 19	24, 25, 24	20, 20, 19
70 % спиртовий екстракт	20, 21, 22	23, 22, 23	24, 25, 25	25, 24, 24	26, 27, 26	22, 20, 21
96 % спиртовий екстракт	18, 19, 19	20, 21, 20	23, 23, 24	24, 24, 23	24, 25, 24	23, 25, 23
Екстракт з хлористим метилоном	17, 18, 18	20, 20, 20	24, 23, 24	20, 22, 22	22, 21, 22	17, 17, 16
10 % спиртовий екстракт + HCl	16, 16, 17	25, 24, 25	24, 23, 24	20, 20, 21	30, 30, 29	24, 23, 24
30 % спиртовий екстракт + HCl	18, 19, 19	24, 23, 24	26, 27, 26	24, 23, 24	30, 29, 29	23, 25, 24
50 % спиртовий екстракт + HCl	22, 22, 22	24, 25, 24	24, 24, 24	25, 25, 24	25, 26, 25	23, 24, 25
70 % спиртовий екстракт + HCl	22, 22, 22	21, 22, 22	25, 24, 24	25, 24, 25	26, 25, 26	23, 23, 23
96 % спиртовий екстракт + HCl	20, 20, 21	18, 18, 19	23, 24, 23	25, 24, 25	24, 25, 26	23, 24, 22
Екстракт з хлористим метилоном + HCl	18, 18, 17	19, 20, 19	16, 16, 17	17, 17, 16	20, 21, 21	17, 16, 16

ВИСНОВКИ

1. Проведено дослідження на антимікробні властивості 12 отриманих екстрактів та виявлено, що всі штами мікроорганізмів є чутливими до всіх досліджуваних зразків.
2. По відношенню до *S. aureus* найбільш активними виявилися 50 та 70 % спиртові екстракти.
3. По відношенню до *E. coli* і *P. vulgaris* високу інгібуючу активність проявили спиртові екстракти в концентраціях 10, 30 та 50 %.

4. По відношенню до *P. aeruginosa* найбільш активними виявилися спиртові екстракти у концентраціях 70 та 96 %, а також підкислені 30 і 50 % зразки.
5. Більшість спиртових екстрактів, отриманих при підкисленні, проявляє більшу інгібуючу активність, ніж нейтральні зразки.
6. Екстракти, отримані з використанням хлористого метилена, проявляють меншу інгібуючу активність, ніж спиртові екстракти.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Попова, Н. В. Лекарственные растения мировой флоры : энциклопед. справочник / Н. В. Попова, В. И. Литвиненко, А. С. Куцанян. – Х. : Діса плюс, 2016. – 540 с.
2. Лікарські рослини : енциклопед. довід. / за ред. акад. АН УССР М. Гродзінського. – К. : Голов. ред. укр. рад. Енциклопедії імені М. П. Бажана, 1991. – 544 с.
3. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради та автор передмови В. П. Черних. – 3-тє вид., переробл. і допов. – К. : МОПІОН, 2016. – 1952 с.
4. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants / World Health Organization Geneva, 2003. – 72 p.
5. Державна фармакопея України: в 3-х т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. – Х. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
6. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів: метод. рек. – К., 2004. – 38 с.

REFERENCES

1. Popova, N. V., Litvinenko, V. I., Kutcanian, A. S. (2016). *Lekarstvennyye rasteniia mirovoi flory: entsikloped. spravochnik*. Kharkov : Disa plus, 540.
2. Hrodzinskiy, M. (Ed.). (1991). *Likarski roslyny: entsyklopedychnyi dovidnyk*. Kyiv : Holov. red. ukr. rad. Entsyklopedii im. M. P. Bazhana, 544.
3. Chernykh, V. P. (Ed.). (2016). *Farmatsevtichna entsyklopediia (3-edition)*. Kyiv : MORION, 1952.
4. WHO guidelines on good agricultural and collection practices (GACP) for medicinal plants. (2003). World Health Organization Geneva, 72.
5. *Derzhavna farmakopeia Ukrainy : (Vols 3)*. (2015). DP "Ukrainskyi naukovyi farmakopeyniy tsentr yakosti likarskykh zasobiv" (2-edition). Kharkiv: DP "Ukrainskyi naukovyi farmakopeyniy tsentr yakosti likarskykh zasobiv", 1, 1128.
6. *Vyvchennia spetsyfnchoi aktyvnosti protymikrobynykh likarskykh zasobiv*. (2004). Metodychni rekomendatsii. Kyiv: 38.

Відомості про авторів:

Куцанян А. А., студент, Національний фармацевтичний університет. E-mail: aka130999@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1858-3991>

Попова Н. В., докторка фармац. наук, професорка кафедри хімії природних сполук і нутриціології, Національний фармацевтичний університет. E-mail: bromanutr@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2010-8310>

Комісаренко М. А., асистент кафедри фармакогнозії, Національний фармацевтичний університет. E-mail: a0503012358@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1161-8151>

Осолодченко Т. П., канд. біол. наук, ст. наук. співробітниця, зав. лабораторії біохімії та біотехнології, Державна установа

«Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України». E-mail: imi_lbb@ukr.net

Литвиненко В. І., доктор хім. наук, професор, зав. сектора хімії і технології фенольних препаратів, Державне підприємство

«Державний науковий центр лікарських засобів та медичної продукції», Україна. E-mail: vaslitvinenko1@rambler.ru

Information about authors:

Kutsanyan A., student, National University of Pharmacy. E-mail: aka130999@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1858-3991>

Popova N., Doctor of Pharmacy, Professor, the Department of Chemistry of Natural Compounds and Nutritiology, National University of Pharmacy.

E-mail: bromanutr@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2010-8310>

Komisarenko M., assistant, the Department of Pharmacognosy, National University of Pharmacy. E-mail: a0503012358@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1161-8151>

Osolodchenko T., PhD in Biology, senior researcher, head of the Laboratory of Biochemistry and Biotechnology,

Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the NAMS of Ukraine. E-mail: imitayana@mail.ru

Litvinenko V., Doctor of Chemistry, Professor, head of the Department of Chemistry and Technology of Phenolic Drugs,

State Enterprise "State Scientific Center for Drugs and Medicinal Products". E-mail: vaslitvinenko1@rambler.ru

Сведения об авторах:

Куцанян А. А., студент, Национальный фармацевтический университет. E-mail: aka130999@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1858-3991>

Попова Н. В., доктор фармац. наук, профессор кафедры химии природных соединений и нутрициологии, Национальный

фармацевтический университет. E-mail: bromanutr@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2010-8310>

Комиссаренко Н. А., ассистент кафедры фармакогнозии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: a0503012358@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1161-8151>

Осолодченко Т. П., канд. биол. наук, старший научный сотрудник, зав. лабораторией биохимии и биотехнологии,

Государственное учреждение «Институт микробиологии и иммунологии имени И. И. Мечникова НАМН Украины».

E-mail: imi_lbb@ukr.net

Литвиненко В. И., доктор хим. наук, профессор, зав. сектором химии и технологии фенольных препаратов,

Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции», Украина.

E-mail: vaslitvinenko1@rambler.ru

Надійшла до редакції 01.03.2020 р.