บทที่ 4

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

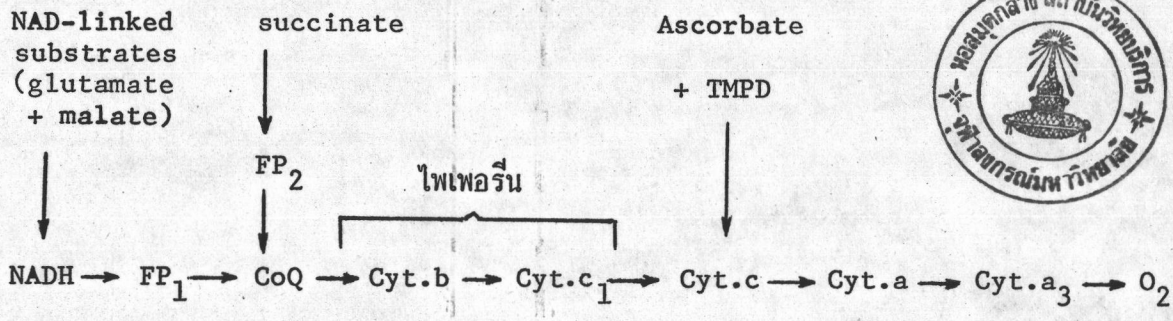
ไพเพอรีนเป็นสารซึ่งมีรายงานว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย ได้แก่ระบบประสาทส่วนกลาง, ระบบหัวใจหลอดเลือดและการหายใจ, ระบบสืบพันธุ์ และระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งมีฤทธิ์ทางพิษวิทยาบางอย่างอีกด้วย แต่ยังไม่เคยมีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ของไพเพอรีนที่มีต่อการทำงานของไมโตคอนเดรีย เนื่องจากไมโตคอนเดรียเป็น organelle ที่มีความสำคัญมากต่อการทำงานและดำรงชีวิตของเซลเพราะเป็นแหล่งที่สำคัญที่สุดในการสร้าง ATP ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาฤทธิ์ของไพเพอรีนที่มีต่อกระบวนการ electron transport, oxidative phosphorylation และ calcium transport ของไมโตคอนเดรีย ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้ไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลตับของหนูขาวเป็นตัวอย่าง (model) ในการศึกษา

จากผลการทดลองที่ได้เสนอไว้ในที่นี้แสดงให้เห็นชัดว่าไพเพอรีนมีผลต่อไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลตับของหนูขาว โดยที่ไพเพอรีนมีผลยับยั้งกระบวนการ oxidative phosphorylation (รูปที่ 2,3,4,5) และยับยั้งการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซี่ยม (รูปที่ 6,7,8,9) แต่กระตุ้นเอ็นไซม์ ATPase ของไมโตคอนเดรีย (รูปที่ 15) นอกจากนั้นแล้วไพเพอรีนยังแสดงผลยับยั้งการสะสมแคลเซี่ยมและทำให้ไมโตคอนเดรียปลดปล่อยแคลเซี่ยมออกมา (รูปที่ 17,18,19)

จากการศึกษาผลของไพเพอรีนที่มีต่อกระบวนการ oxidative phosphorylation ในไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลตับของหนูขาวแสดงให้เห็นว่ากระบวนการนี้ถูกยับยั้งโดยไพเพอรีน การเกิด state 3 respiration และกระบวนการสังเคราะห์ ATP ถูกยับยั้งโดยไพเพอรีน (รูปที่ 2,3,4,5) นอกจากนั้นแล้ว DNP-stimulated respiration ก็ไวต่อไพเพอรีนด้วยเช่นกันเมื่อใช้ glutamate + malate เป็น respiratory substrate (รูปที่ 3) แต่เมื่อใช้ succinate เป็น substrate แทนพบว่า DNP-stimulated respiration

จะไวต่อไพเพอรีนน้อยกว่า state 3 respiration (รูปที่ 5) ซึ่งเหตุผลยังไม่ทราบแน่ชัด เนื่องจากทั้ง state 3 และ DNP-stimulated respiration ถูกยับยั้งโดยไพเพอรีน แสดงว่าไพเพอรีนมีฤทธิ์ทำนองเดียวกับ respiratory chain inhibitors ซึ่งตำแหน่งที่ไพเพอรีนออกฤทธิ์ควรจะอยู่หลังตำแหน่งที่ succinate ส่งอิเลคตรอนเข้าสู่ respiratory chain กล่าวคืออยู่ถัดจาก Co Q ทั้งนี้เพราะไพเพอรีนสามารถยับยั้ง state 3 และ DNP-stimulated respiration ได้เมื่อใช้ succinate เป็น substrate

จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่ากระบวนการ oxidative phosphorylation ใน intact mitochondria สามารถถูกยับยั้งได้โดยไพเพอรีนเมื่อมี NAD-linked substrate (glutamate + malate) หรือ succinate เป็นสารให้อิเลคตรอน เพื่อยืนยันผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น จึงได้ทำการศึกษาผลของไพเพอรีนที่มีต่อการหายใจของ hypotonic-treated mitochondria (HTM) โดยปกติแล้ว intact mitochondria ไม่สามารถ oxidize exogenous NADH ได้เนื่องจากผนังชั้นในของไมโตคอนเดรียจะ permeable ต่อสารประกอบตัวนี้น้อยมาก อย่างไรก็ตาม permeability ต่อ NADH จะเพิ่มมากขึ้นเมื่อนำไมโตคอนเดรียมาแช่ในสารละลาย hypotonic (Lehninger, 1951) จากการทดลองแสดงให้เห็นชัดว่าไพเพอรีนมีผลยับยั้งการ oxidation ของ NADH และ succinate โดย HTM (รูปที่ 10, 11,12) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น และเมื่อทำการทดลองโดยใช้ ascorbate + TMPD ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเลคตรอน (artificial electron donor) โดยจะส่งอิเลคตรอนเข้าที่บริเวณ cytochrome c ใน respiratory chainของไมโตคอนเดรีย จะเห็นว่าไพเพอรีนมีผลในการยับยั้งการเกิด oxidation ของ ascorbate + TMPD น้อยมากหรือแทบไม่มีผลเลย (รูปที่ 13) ไม่ว่าจะใช้ไพเพอรีนในขนาดสูงหรือต่ำก็ตาม ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นทำให้สรุปได้ว่าตำแหน่งที่ไพเพอรีนไปออกฤทธิ์ใน respiratory chain ของไมโตคอนเดรียควรอยู่บริเวณระหว่าง Co Q ถึง Cyt.c ดังแสดงในแผนภาพข้างล่างนี้



วงเล็บปีกกาแสดงตำแหน่งการออกฤทธิ์ที่เป็นไปได้ของไพเพอรีน

เนื่องจากไพเพอรีนมีผลยับยั้ง state 3 และ uncoupled respiration แสดงว่าไพเพอรีนควรจะออกฤทธิ์ที่ respiratory chain ของไมโตคอนเดรีย แต่ก็อาจเป็นไปได้ว่าไพเพอรีนออกฤทธิ์ยับยั้งที่เอ็นไซม์ ATPase ด้วยเช่นกัน ATPase เป็นเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ ATP จาก ADP และ Pi โดยใช้พลังงานที่เกิดจากการส่งอิเลคตรอนใน respiratory chain สารที่มีฤทธิ์ยับยั้ง ATPase เช่น oligomycin จะยับยั้งการสังเคราะห์ ATP โดยกระบวนการ oxidative phosphorylation และ state 3 respiration ของไมโตคอนเดรีย (Senior, 1973) เพื่อที่จะทราบว่าไพเพอรีนมีผลยับยั้ง ATPase หรือไม่ จึงได้ทำการศึกษาผลของสารนี้ต่อ ATPase activity เมื่อมีและไม่มี DNP อยู่ด้วย จากการศึกษาฤทธิ์ของไพเพอรีนที่มีต่อเอ็นไซม์ ATPase ของไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลตับของหนูขาวแสดงให้เห็นว่าไพเพอรีนมีแนวโน้มที่จะเสริมฤทธิ์กับ DNP ในการกระตุ้น ATPase activity (รูปที่ 14) ซึ่งผลดังกล่าวชี้แนะว่าไพเพอรีนอาจมีฤทธิ์กระตุ้น ATPase ได้ด้วยตัวเอง และเมื่อทำการทดลองโดยใช้เฉพาะไพเพอรีนและไม่มี DNP รวมอยู่ด้วย พบว่าไพเพอรีนมีฤทธิ์กระตุ้นเอ็นไซม์ ATPase ในไมโตคอนเดรียได้จริง (รูปที่ 15) เมื่อทำการเปรียบเทียบในการกระตุ้น ATPase activity โดยดูจากอัตราการเกิดของ Pi จะเห็นว่าไพเพอรีนมีฤทธิ์ในการกระตุ้นเอ็นไซม์ ATPase ในไมโตคอนเดรียที่อ่อนกว่า DNP และเมื่อทำการทดลองโดยใส่ตัวยับยั้งร่วมด้วยใน reaction mixture ได้แก่ oligomycin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่ทราบกันดีว่ามีฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการ oxidative phosphorylation และสามารถยับยั้ง uncoupler-stimulated ATPase ที่แรงโดยไปออกฤทธิ์ที่ ATPase complex(Lardy et al., 1958;

Senior, 1973) และ atractyloside ซึ่งเป็น glycoside ที่ได้จากพืชโดยมีฤทธิ์เป็นตัวยับยั้ง adenine nucleotide translocator ที่แรงซึ่ง adenine nucleotide translocator นี้พบที่บริเวณผนังชั้นในของไมโตคอนเดรีย โดยทำหน้าที่เป็น ADP-ATP exchanger กล่าวคือนำ ADP จากภายนอกไมโตคอนเดรียเข้าไปภายในพร้อมกับนำ ATP จากภายในไมโตคอนเดรียออกมาสู่ภายนอก หรือตรงกันข้ามขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ ADP และ ATP ภายนอกและภายในไมโตคอนเดรีย (Vignais et al., 1966)จะเห็นว่าทั้ง oligomycin และ atractyloside มีผลยับยั้งฤทธิ์ของไพเพอรีนในการกระตุ้นเอ็นไซม์ ATPase ได้บ้าง (ตารางที่ 1) และเมื่อเพิ่มปริมาณของ atractyloside ก็มีผลยับยั้งฤทธิ์ของไพเพอรีนเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (ตารางที่ 2) จากการที่ไพเพอรีนไม่สามารถยับยั้ง ATPase activity ที่ถูกกระตุ้นด้วย DNP แสดงว่าการยับยั้ง state 3 respiration ของไพเพอรีนนั้นไม่ได้เป็นผลจากการยับยั้ง ATPase ร่วมอยู่ด้วย แต่เป็นผลมาจากการยับยั้ง electron transport ที่ respiratory chain เพียงอย่างเดียว ส่วนกลไกที่ไพเพอรีนกระตุ้น ATPase นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด ไพเพอรีนอาจออกฤทธิ์โดยตรงต่อ ATPase complex ก็ได้ หรืออาจออกฤทธิ์กระตุ้น ATPase ทางอ้อมกล่าวคือทำหน้าที่เป็น uncoupler ทำนองเดียวกับ DNP ซึ่งฤทธิ์เป็น uncoupler ของไพเพอรีนนั้นไม่น่าจะเป็นไปได้เพราะว่าไพเพอรีนไม่มีฤทธิ์กระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรีย (curve B รูปที่ 2 และ 4) ประเด็นที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งเกี่ยวกับฤทธิ์การกระตุ้น ATPase ของไพเพอรีนก็คือ oligomycin และ atractyloside ในปริมาณที่สามารถยับยั้ง state 3 respiration ได้สมบูรณ์ (รูปที่ 16) มีผลยับยั้ง ATPase activity ที่ถูกกระตุ้นโดยไพเพอรีนได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ซึ่งจุดนี้จะต้องทำการศึกษาต่อไปและอาจจะทำให้ได้ข้อมูลที่ทำให้เข้าใจการทำงานของเอ็นไซม์ ATPase ได้ดียิ่งขึ้นก็เป็นได้

จากผลของไพเพอรีนที่มีต่อเอ็นไซม์ ATPase ในไมโตคอนเดรียดังได้กล่าวไว้แล้วข้างต้นสามารถนำมาอธิบายความบกพร่องของ respiratory control ในไมโตคอนเดรียซึ่งเกิดขึ้นเมื่อให้ไพเพอรีน จากการศึกษาผลของไพเพอรีนที่มีต่อกระบวนการ oxidative phosphorylation (รูปที่ 2, curve B) จะเห็นว่าการเกิด state 3 respiration จะถูกยับยั้งแต่อัตราของการเกิด state 4 respiration จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีไพเพอรีน การเพิ่มอัตราของ state 4 respiration อาจเนื่องจากเป็นผลของไพเพอรีนในการมีฤทธิ์กระตุ้น

ATPase activity โดยในระหว่างการเกิด state 3 respiration ADP จะถูก phosphorylate เป็น ATP อย่างไรก็ตาม ATP ที่เกิดขึ้นจะถูก hydrolyse ซึ่งเกิดจากไพเพอรีนไปกระตุ้นเอ็นไซม์ ATPase ได้ ADP และ Pi ซึ่งสามารถถูก phosphorylate อีกโดยไมโตคอนเดรียได้ ATP พร้อมกับเกิดการกระตุ้นการหายใจด้วย ข้อที่ควรสังเกตก็คือว่าการเกิด state 3 respiration เมื่อมีไพเพอรีนจะค่อนข้างเร็วกว่า state 4 respiration อาจเป็นไปได้ว่าไพเพอรีนไปกระตุ้น ATP hydrolysis ในอัตราที่ช้าทำให้มีปริมาณของ ADP และ Pi ไม่เพียงพอในการกระตุ้นการหายใจของไมโตคอนเดรียให้มากที่สุด

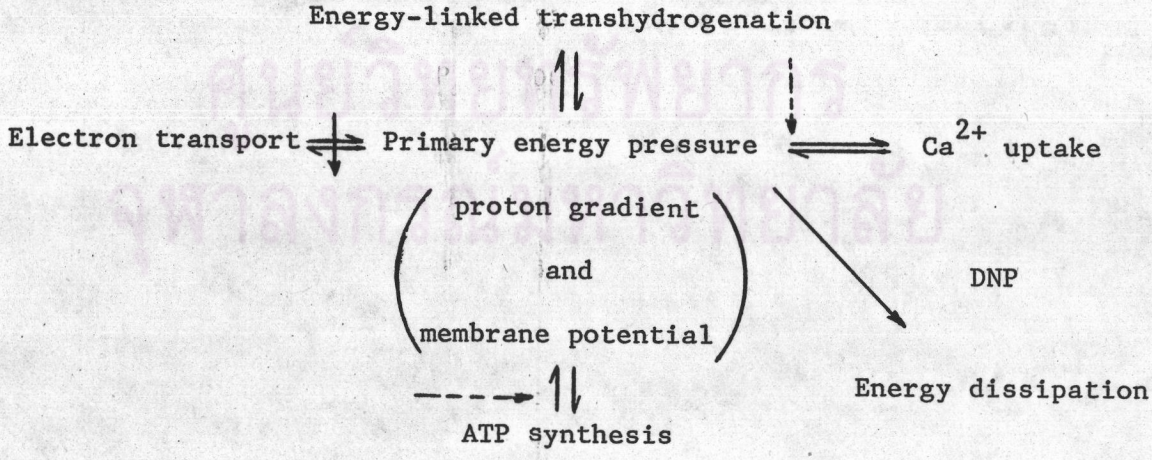
จากผลการทดลองที่ได้กล่าวมาข้างต้นแล้วแสดงอย่างชัดเจนว่าไพเพอรีนยับยั้งกระบวนการ oxidative phosphorylation โดยไปออกฤทธิ์ที่ respiratory chain ของไมโตคอนเดรียที่บริเวณระหว่าง Co Q และ Cytochrome c โดยไม่มีผลต่อกระบวนการ phosphorylation ซึ่งการออกฤทธิ์ดังกล่าวของไพเพอรีนจะทำให้ไม่มีการสร้าง proton gradient และ membrane potential โดยไมโตคอนเดรียเมื่อใช้ NAD-linked substrate หรือ succinate เป็นสารให้อิเลคตรอน ซึ่งการสร้าง proton gradient และ membrane potential นี้ไม่เพียงแต่จะจำเป็นสำหรับกระบวนการสังเคราะห์ ATP เท่านั้น แต่ยังจำเป็นสำหรับการสะสมอิออนบวกต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแคลเซี่ยมซึ่งต้องใช้พลังงานโดยไมโตคอนเดรีย (Lehninger et al., 1967) ซึ่งจากการศึกษาผลของไพเพอรีนที่มีต่อการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซี่ยมในไมโตคอนเดรีย แสดงให้เห็นว่าไพเพอรีนมีผลยับยั้งการหายใจที่เกิดจากการเติม $CaCl_2$ ลงไปในไมโตคอนเดรีย (รูปที่ 6, 7, 8, 9) เมื่อมี NAD-linked substrates (glutamate + malate) หรือ succinate เป็น respiratory substrate ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการออกฤทธิ์ของไพเพอรีนที่ respiratory chain ของไมโตคอนเดรีย

เป็นที่ทราบกันแล้วว่าการขนส่งและสะสมแคลเซี่ยมโดยไมโตคอนเดรียเป็นกระบวนการ active transport ซึ่งต้องใช้พลังงาน ซึ่งพลังงานนี้สามารถได้มาจาก substrate oxidation หรือ ATP hydrolysis (Lehninger, 1970) เมื่อมี substrate oxidation

(กล่าวคือมี electron transport ใน respiratory chain) หรือ ATP hydrolysis จะมีการสร้าง proton gradient และ membrane potential ขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของ proton ภายในไมโตคอนเดรียจะน้อยกว่าภายนอก และ potential ภายในไมโตคอนเดรียจะเป็นลบเมื่อเทียบกับภายนอก การขนส่งอิออนบวกโดยเฉพาะอย่างยิ่งแคลเซี่ยมเชื่อกันว่าเกิดจากการที่แคลเซี่ยมจับกับ calcium carrier ที่ผิวด้านนอกของ inner membrane ของไมโตคอนเดรีย จากนั้นแคลเซี่ยมจะเคลื่อนที่ผ่าน inner membrane โดยอาศัยแรงดึงดูดระหว่างประจุบวกของแคลเซี่ยมกับ negative potential ภายในไมโตคอนเดรีย (Fiskum and Lehninger, 1980) ดังนั้นสารที่ยับยั้งการขนส่งและการสะสมแคลเซี่ยมโดยไมโตคอนเดรียอาจออกฤทธิ์โดยยับยั้ง electron transportที่ respiratory chain เช่น rotenone, antimycin และ cyanide เป็นต้น หรือยับยั้ง ATPase เช่น oligomycin หรือยับยั้งการขนส่ง ATP จากภายนอกเข้าไปภายในไมโตคอนเดรียเช่น atractyloside หรือยับยั้งที่ calcium carrier เช่น La^{3+} และ ruthenium red เป็นต้น หรือโดยการสลาย membrane potential เช่น uncoupler เนื่องจากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นแสดงว่าไพเพอรีนออกฤทธิ์เป็น respiratory chain inhibitor ดังนั้นไพเพอรีนจึงควรยับยั้งการขนส่งและสะสมแคลเซี่ยมโดยไมโตคอนเดรียด้วยเช่นกัน จากผลการทดลองโดยใช้ NAD-linked substrate (ในที่นี้ใช้ glutamate + malate) หรือ succinate เป็น substrate ใน reaction mixture เมื่อมีไพเพอรีน พบว่าไมโตคอนเดรียไม่สามารถสะสมแคลเซี่ยมไว้ในตัวมันได้และปลดปล่อยแคลเซี่ยมออกมาใน medium ไม่ว่าจะให้ไพเพอรีนก่อนที่ไมโตคอนเดรียจะสะสมแคลเซี่ยมหรือให้หลังจากที่ไมโตคอนเดรียสะสมแคลเซี่ยมไว้ในตัวมันแล้วก็ตาม (รูปที่ 17,18) เพียงแต่ว่าอัตราในการปลดปล่อยแคลเซี่ยมโดยไมโตคอนเดรียจะเร็วกว่าเมื่อใส่ไพเพอรีนก่อนที่ไมโตคอนเดรียจะสะสมแคลเซี่ยม เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างการใช้ NAD-linked substrates กับ succinate จะเห็นว่าไพเพอรีนมีผลยับยั้งการสะสมแคลเซี่ยมโดยไมโตคอนเดรียที่แรงเมื่อใช้ succinate เป็น substrate ซึ่งเหตุผลยังไม่ทราบแน่ชัด เมื่อทำการทดลองโดยใช้ ATP เป็นแหล่งให้พลังงานแทน substrate oxidation พบว่าไพเพอรีนสามารถยับยั้งการสะสมแคลเซี่ยมโดยไมโตคอนเดรียเช่นเดียวกัน (รูปที่ 19) การที่ไพเพอรีนสามารถยับยั้งการสะสมแคลเซี่ยมโดยไมโตคอนเดรียเมื่อใช้ ATP เป็นแหล่งให้พลังงานได้อาจเป็นเพราะ

ไพเพอรีนไปออกฤทธิ์กระตุ้นเอ็นไซม์ ATPase ของไมโตคอนเดรียดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น ทำให้มีปริมาณของ ATP ลดลงจึงมีผลทำให้ไมโตคอนเดรียไม่สามารถสะสมแคลเซี่ยมไว้ได้ เมื่อให้ DNP ซึ่งเป็น classical uncoupler ซึ่งเป็นที่รู้จักกันดี (Weinbach and Garbus, 1965; Stockdale and Selwyn, 1971) หรือ uncoupler อีกตัวหนึ่งคือ CCCP ซึ่งมีฤทธิ์แรงกว่า DNP ถึง 200 เท่า (Heytler, 1963) หลังจากที่ไมโตคอนเดรียสะสมแคลเซี่ยมไปแล้ว 2 นาทีจะพบว่าแคลเซี่ยมที่ถูกสะสมจะถูกปลดปล่อยออกหมด ไม่ว่าจะใช้ substrate หรือ ATP เป็นแหล่งให้พลังงาน (รูปที่ 17, 18, 19) โดยที่ CCCP ออกฤทธิ์เร็วกว่า DNP และ DNP ออกฤทธิ์เร็วกว่าไพเพอรีน การที่ไพเพอรีนสามารถไปมีผลยับยั้งการสะสมแคลเซี่ยมและทำให้ไมโตคอนเดรียปลดปล่อยแคลเซี่ยมออกมาได้นั้นอย่างน้อยที่สุดก็สามารถอธิบายได้โดยการยับยั้ง electron transport และการมีฤทธิ์กระตุ้น ATP hydrolysis ทำให้ปริมาณของ ATP ลดลง เป็นผลให้ไมโตคอนเดรียไม่สามารถสะสมแคลเซี่ยมไว้ได้และทำให้แคลเซี่ยมถูกปลดปล่อยออกมาจากไมโตคอนเดรีย แต่อย่างไรก็ตามเป็นไปได้ว่า ไพเพอรีนอาจมีฤทธิ์โดยตรงต่อ calcium carrier รวมอยู่ด้วย ซึ่งจุดนี้จะต้องทำการทดลองเพื่อพิสูจน์ต่อไป

จากผลการทดลองที่ได้กล่าวไว้แล้วทั้งหมด ทำให้สามารถสรุปผลการออกฤทธิ์ของไพเพอรีนต่อ energy conservation pathway ของไมโตคอนเดรียที่แยกจากตับหนูขาว ได้ดังแผนภูมิต่อไปนี้



——→ แสดงตำแหน่งการออกฤทธิ์ของไพเพอรีนที่เป็นไปได้อย่างยิ่ง

- - - - - - - - - → แสดงตำแหน่งการออกฤทธิ์ของไพเพอรีนที่อาจเป็นไปได้

เนื่องจากไพเพอรีนเป็นสารที่มีอยู่ในพริกไทยซึ่งนิยมใช้กันมากในการปรุงแต่งรสอาหาร การที่ไพเพอรีนมีผลต่อไมโตคอนเดรียชี้แนะว่าการบริโภคพริกไทยมากเกินไปอาจไม่เป็นผลดีต่อผู้บริโภค เช่นเดียวกับการบริโภคพริก แต่จากการที่เราไม่ค่อยพบความเป็นพิษที่อาจเกิดขึ้นในคน เนื่องจากปริมาณของไพเพอรีนที่คาดว่ารับประทานต่อวันไม่สูงถึงขนาดที่ทำให้เกิดพิษคือ 250 มก./นน.ตัว (กก.)/วัน โดยเปรียบเทียบจากสัตว์ทดลอง (Piyachaturawat et al., 1983) อย่างไรก็ตามการรับประทานไพเพอรีนในปริมาณมาก ๆ ต่อวันเป็นระยะเวลานาน อาจทำให้ถึงระดับความเป็นพิษได้ และเป็นไปได้อย่างมากว่าผลของไพเพอรีนที่มีต่อการทำงานของไมโตคอนเดรียอาจเกี่ยวข้องกับการเกิดอาการพิษในสัตว์ทดลองที่ได้รับไพเพอรีนในขนาดสูง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปผลการทดลอง

1. ไพเพอรีนสามารถยับยั้ง state 3 และ DNP-stimulated respiration และยับยั้งการกระตุ้นการหายใจโดยแคลเซี่ยมในไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลตับของหนูขาว เมื่อใช้ glutamate + malate หรือ succinate เป็น substrates
2. เมื่อใช้ succinate เป็น substrate พบว่า state 3 respiration จะไวต่อไพเพอรีนมากกว่า DNP-stimulated respiration
3. ไพเพอรีนสามารถยับยั้งการ oxidation ของ NADH และ succinate ใน HTM แต่มีผลน้อยมากต่อการ oxidation ของ ascorbate + TMPD
4. ไพเพอรีนไม่ได้ยับยั้ง DNP-induced ATPase activity ในไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลตับของหนูขาว
5. ไพเพอรีนสามารถกระตุ้นเอ็นไซม์ ATPase ของไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลตับของหนูขาว แต่ฤทธิ์อ่อนกว่า DNP โดยที่ oligomycin และ atractyloside สามารถยับยั้งผลดังกล่าวของไพเพอรีนได้บ้าง
6. ไพเพอรีนสามารถยับยั้งการสะสมแคลเซี่ยมโดยไมโตคอนเดรีย และทำให้แคลเซี่ยมถูกปลดปล่อยออกมาเร็วขึ้น เมื่อใช้ glutamate + malate, succinate หรือ ATP เป็นแหล่งให้พลังงาน
7. จากผลการทดลองสรุปได้ว่าไพเพอรีนออกฤทธิ์รบกวนกระบวนการ oxidative phosphorylation และปฏิกิริยาอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการใช้พลังงานของไมโตคอนเดรียที่แยกจากเซลตับหนูขาว โดยไปขัดขวางการขนส่งอิเลคตรอนจาก coenzyme Q ถึง cytochrome c ในลูกโซ่การหายใจของไมโตคอนเดรีย และไพเพอรีนอาจกระตุ้น ATPase activity ของไมโตคอนเดรียโดยการออกฤทธิ์โดยตรงต่อเอ็นไซม์ ATPase complex